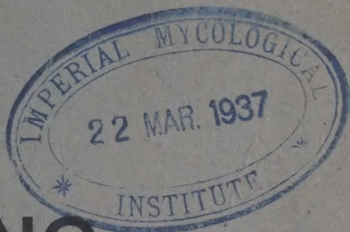
Anno 13° - N. 5-6 Ottobre - Dicembre 1936-XV





BOLLETTINO

del

Laboratorio Sperimentale e Regio Osservatorio di Fitopatologia

TORINO (106)

Via Lucio Bazzani 24 bis, Telef. 60.562

1936

PIETRO BARATTINI - TORINO

VIA SPOTORNO 1

Il Laboratorio sperimentale di Fitopatologia ha per iscopi la determinazioni delle cause nemiche delle piante, lo studio delle condizioni fitopatologiche locale, la sperimentazione scientifica delle malattie delle piante e dei mezzi di difesa, in laboratorio e nel campo sperimentale, ed è retto da un Consiglio d'Amministrazione composto dai rappresentanti del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste e dei vari Enti locali che concorrono al suo mantenimento.

Il Personale è a disposizione degli Enti agrari e degli Agricoltori della regione per visite ai coltivati e per consulti orali e scritti, tutti i giorni non festivi, dalle 9,30 alle 12 e dalle 15 alle 18

Il Laboratorio funziona come R. Osservatorio per le malattie delle piante del Ministero dell'Agricoltura e foreste per la vigilanza all'interno e quella sull'importazione e l'esportazione dei vegetali, pel controllo sui vivai, per l'organizzazione delle operazioni di difesa e per gli altri compiti dei quali può essere incaricato dal Ministero.

Esso è fra gli Istituti autorizzati, per disposizione governativa, all'analisi, al controllo delle sementi ed al rilascio dei relativi certificati.

Personale scientifico del Laboratorio (R. Osservatorio) di Fitopatologia:

Direttore Inc.: *Dott. Prof. Giuseppe Della Beffa;*
Sperimentatori: *Dott. Prof. Virginia Bongini;*
Dott. Ottone Servazzi.

SOMMARIO:

A. 13° N. 5-6 Ottobre-Dicembre 1936-XV

Bollettino del Laboratorio Sperimentale e R. Osservatorio di Fitopatologia
Diretto dal Prof. G. DELLA BEFFA

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DEGLI INSETTI PARASSITI DEI PIOPPI

L'EARIAS VERNANA Hb.
(Nottua delle gemme del pioppo bianco)

Posizione sistematica

L'*Earias vernana* Hb. pel suo aspetto simile a quello di un Tortricide fu chiamata dal Ratzeburg *Tortrix vernana*; il Nitsche la collocò fra i Bombicidi col nome di *Halias vernana;* lo Spuler la inserì in una apposita famiglia chiamata *Nycteolidae* situata tra i *Nolidae* ed i *Syntomidae*; Nüsslin-Rhumbler, Sorauer ed altri Autori l'attribuiscono alla famiglia dei *Cymbidae;* Altum finalmente collocò questo genere e questa specie fra le *Noctuidae* e precisamente nella sottofamiglia *Chloëphorinae*, posizione oggi seguita dalla maggior parte dei Lepidotterologi.

Distribuzione geografica, pianta nutrice

E' specie diffusa in gran parte dell'Europa centrale; lo Staudinger e Rebel, lo Spuler, il Seitz, la citano per l'Austria, l'Ungheria, la Slesia, la Galizia, la Pomerania. In merito alla sua diffusione in Italia si hanno poche notizie; la sua presenza in Italia è già stata segnalata dal Ghiliani, dal Curò e dal Rocci pel Piemonte, dal Costantini per l'Emilia, dal Dannehl per l'Alto Adige. Non si hanno altre notizie, mentre la specie affine, l'*Earias chlorana* L., che vive sui salici, è assai più diffusa e più citata per svariate località.

Il bruco dell'*Earias vernana* Hb. vive esclusivamente sul *Populus alba*, a spese delle gemme e delle foglie. Lo trovai abbondante e dannoso nel Vercellese ed a Villafranca Sabauda, specialmente nelle piantine dei vivai. E' appunto pei danni arrecati dal bruco che credo utile illustrare brevemente questa specie poco nota dai pioppicultori, non citata dai trattati di entomologia agraria o forestale, e sulla quale non furono fatti sinora da noi studii biologici.

I trattati del Cecconi, del Barbey, del Ratzeburg, del Sorauer, dell'Escherich, non la citano; il Ratzeburg, il Sorauer e l'Escherich fanno menzione solo dell'*Earias chlorana*.

Descrizione dell'insetto

Dimensioni. — L'insetto (fig. 5) ha un'apertura alare poco variabile da 16 a 18 mm. nel maschio e da 17 a 20 mm. nella femmina.

Colore. — Il Capo ed il torace sono di color bianco-verdolino lucente con tromba gialla e occhi di colore castano, antenne bianche anellate di bruno.

Le ali anteriori nel complesso superiormente sono di color bianco-verde alquanto più carico della tinta del torace: esaminate ad ingrandimento la superficie risulta coperta di squamette strette e lunghe di colore bianco-verdolino in mezzo alle quali sono sparse e disseminate squamette di color verde-pisello: queste squamette diventano più fitte e numerose verso il margine distale che assume quindi una tinta verde sfumata dal lato interno mentre dal lato esterno prima della frangia vi è una serie di squame di color verde-giallo; il margine anteriore dell'ala è bianco-gialliccio; la frangia è corta, formata da peli squamosi di colore bianco-argenteo. Sulle ali vi sono due leggere linee trasversali formate di squamette di color verde pisello, talora pochissimo evidenti, special-

mente quella interna; la linea interna parte dai 2/5 del margine anteriore e va circa alla metà del margine posteriore, è sinuosa con due convessità rivolte verso la zona basale dell'ala; la lineetta esterna, in genere più marcata, presenta un'unica convessità rivolta verso il margine distale. Inferiormente le ali anteriori sono di color bianco verdolino con la zona discoidale e prossimale leggermente sfumata di grigio-castano con venature di questa tinta ma più carica.

Ali posteriori di color bianco argenteo con una sfumatura verdolina, non sempre evidente, lungo il margine distale; frangia bianca con peli un po' più lunghi rispetto quelli della frangia delle ali anteriori. Inferiormente le ali posteriori sono bianche con venature distinguibili per una tinta alquanto più scura.

L'addome e le zampe sono più o meno coperte di squamette bianco-argentee e bianco-verdoline.

Morfologia. — Il *cranio* è trasverso ed ipognato; lateralmente ha due grandi *occhi* composti emisferici i quali delimitano una zona frontale ristretta, larga meno della larghezza di un occhio; vicino agli occhi, dal lato interno superiore, nascosti dalle squame rivolte in avanti si trovano due piccoli *ocelli*. Le *antenne* sono lunghe circa 5 mm. ed oltrepassano di poco la metà del margine anteriore del primo paio di ali; sono filiformi, inserite vicino al margine interno degli occhi composti, costituite di 46 articoli; il primo articolo è circa rettangolare, lungo quanto i tre che seguono assieme ed ha una larghezza circa doppia rispetto a questi, dal lato interno presenta una fossetta piriforme; il secondo articolo è globuloso; tutti gli altri hanno forma cilindrica, presso a poco di eguale grandezza salvo gli ultimi un po' più piccoli; gli articoli sono uniti gli uni agli altri per mezzo di un breve peduncolo situato all'estremità prossimale interna; all'estremità distale di ogni articolo si trovano due corti aculei, e tutta la superficie è cosparsa di numerosi e brevi peluzzi; il margine distale di ogni articolo è coperto di squamette in modo che nel complesso le antenne appaiono anulate di bianco e di bruno.

Il *labbro superiore* è rappresentato da una sottile laminetta trasversa col margine distale bilobo. *Mandibole* rudimentali. I *palpi labiali* sono molto sviluppati e robusti; il primo articolo è ricurvo in modo da seguire la rotondità dell'occhio al quale aderisce lungo il margine inferiore, dal lato inferiore presenta numerose scaglie allungate dirette verso il basso; il secondo articolo è più lungo e più robusto del primo, di forma leggermente clavata, ricoperto di squame bianche con alcune squame gialle più lunghe, è ripiegato ad angolo rispetto al primo e diretto obliquamente in alto in modo da oltrepassare di poco il livello dell'estremità anteriore dell'occhio; il terzo articolo è corto e piccolo, in generale lungo un quarto rispetto la lunghezza del secondo, per quanto in alcuni esemplari maschi può raggiungere sino la metà di lunghezza del secondo articolo; ha forma di dente più o meno aguzzo ed è inserito ad angolo al secondo articolo in modo da essere rivolto in avanti; in genere è più scuro perchè più povero di scaglie. La *spiratromba* di color giallo ocraceo è lunga e robusta visibile in mezzo ai palpi anche quando è arrotolata a molla d'orologio, protratta raggiunge una lunghezza di circa due volte e mezzo la larghezza del cranio.

Il *torace* è robusto, arrotondato anteriormente, coperto di squame strette e lunghe aderenti embricate miste a pochi peli, formanti due placche sollevabili sul pronoto sopra il capo, e due laterali alla base delle ali.

Le *zampe anteriori* sono piuttosto corte, complessivamente circa 4 mm.; l'anca è abbastanza robusta, cilindrica, restringentesi all'estremità distale, lunga poco più di un millimetro (circa tre volte la larghezza), coperta di squame dal lato ventrale; trocantere piccolissimo; femore lungo circa una volta e mezzo l'anca, depresso ristretto alle due estremità, coperto di squame lungo il margine inferiore; la tibia è lunga circa un terzo la lunghezza del femore, cilindrica ristretta all'estremità prossimale, munita di peli gialli dal lato inferiore e di squamette bianche lungo il margine dorsale; il tarso complessivamente è lungo circa tre volte la tibia, il primo articolo è lungo quasi come la tibia, gli altri quattro vanno decrescendo in lunghezza e spessore, gli unguicoli sono corti, aguzzi, poco arcati; gli articoli sono di color giallo-bruno con numerose corte setole dello stesso colore dal lato inferiore, ogni articolo ha il margine distale coperto di squamette bianche.

Le *zampe medie* sono lunghe una volta e mezzo quelle anteriori, complessivamente circa 6 mm.; l'anca è come quella del primo paio ma più robusta; il femore invece è più sottile e più lungo, cilindrico, leggermente ricurvo, coperto di squamette bianche, dal lato interno presenta un solco longitudinale coi bordi





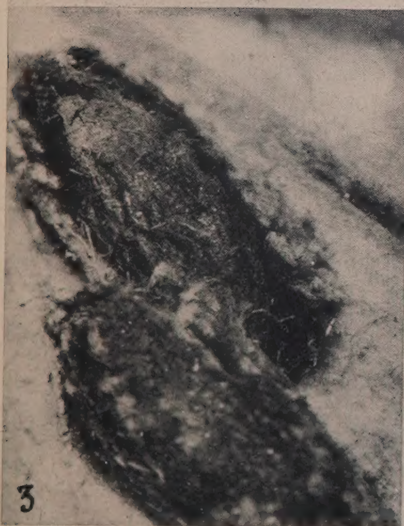




Fig. 1 - Gemma apicale di pioppo bianco saldata e corrosa nell'interno dalla larva giovane di **Earias Vernana**; *sotto due foglie col parenchima corroso dalla larva uscita dalla gemma dopo la III muta, (alquanto ridotto). — Fig. 2 - Gemme apicali rovinate dai bruchi: sotto una gemma saldata da fili sericei interni; sopra una gemma stata aperta, piena di escrementi e di rosura (grand. naturale). — Fig. 3 - Bozzoli sulla pagina inferiore di foglia di pioppio bianco (ingr. 7 volte). — Fig. 4 - Bozzoli coperti di lanuggine bianca; quello di destra aperto dal disotto per far vedere il doppio involucro (ingr. 7 volte).*

un po' rialzati e disseminati di piccole fossette; la tibia è lunga un quarto meno del femore e porta nel margine interno, poco prima dell'estremità distale, due lunghi speroni squamosi uno un po' più corto dell'altro, e corte spine gialle; il tarso costituito di cinque articoli è lungo circa quanto la tibia; il primo articolo è il più lungo, circa due volte e mezzo il secondo e largo una volta e mezzo, il terzo e quarto sono via via più corti e meno larghi rispetto al secondo, il quinto è molto piccolo e porta un paio di unguicoli gialli, corti, arcuati, appuntiti col margine liscio, in mezzo ai quali vi sono dei pulvilli scuri: tutti gli articoli del tarso sono coperti di squamette argentee, e dal lato inferiore hanno fini, fitti, corti peli giallicci.

Le *zampe posteriori* sono alquanto più lunghe delle zampe medie: le anche sono globulose, allungate, robuste, il trocantere piccolo obliquo; i femori sono lunghi, sottili, assottigliati alle due estremità, un po' depressi, pure solcati ma senza fossettine laterali; la tibia è lunga una volta e un quarto la lunghezza del femore, subito dopo la metà nel margine interno porta due lunghi speroni divergenti, uno un po' più lungo rispetto all'altro; altri due speroni pure disuguali si trovano all'estremità distale dal lato interno; essa è coperta di peluzzi gialli dal lato interno e di scagliette bianche (come gli speroni) dal lato esterno o dorsale: il primo articolo del tarso è lungo tre volte il secondo, gli altri articoli decrescono leggermente rispetto alla lunghezza del secondo; sono coperti di squame bianche dorsalmente e di peli e setole gialle ventralmente ed hanno unguicoli e pulvilli come nel tarso delle zampe medie.

Le *ali del primo paio* hanno forma triangolare col margine anteriore incurvato e l'angolo distale anteriore un po' minore di un angolo retto; lunghezza dell'ala mm. 8 a 10, larghezza massima mm. 5. Le venature sono visibili nella pagina inferiore; la subcostale non ha ramificazioni; le ramificazioni III e IV del settore radiale sono fuse insieme nel primo tratto il quale poi si unisce a sua volta con la ramificazione V; esistono tre ramificazioni della venatura mediana e due della cubitale; una sola anale ben distinta; manca la cella basale.

Le *ali posteriori* sono larghe, arrotondate, raggiungendo l'estremità dell'addome: manca la ramificazione II della venatura mediana.

L'*addome* è lungo due volte il torace, largo quasi come questo nella femmina, la metà più sottile nel maschio, coperto di peli e scaglie bianco-verdoline.

Descrizione della larva

La larva matura misura circa 13 mm. e nell'insieme ha un colore bianco verdolino cosparso di pruina e con sfumature e macchioline scure, in modo che presenta un notevole mimetismo rispetto la pagina inferiore delle foglie del pioppo bianco sul quale vive. La larva giovane (fig. 8, 9) ha capo piccolo, nero, lucido, con pochi peli; il corpo di color grigio-verde più o meno chiaro nei diversi esemplari; il protorace è notevolmente sviluppato e porta sulla parte tergale una placca bruna larga e stretta dentellata nel suo margine anteriore e provvista di otto setole, lateralmente si trova l'apertura tracheale orlata di nero; il mesotorace ed il metatorace hanno sulla parte tergale due tubercoli di color bruno muniti ciascuno di una setola nericcia, di fianco ad ogni tubercolo ve ne sono altri due, uno a destra ed uno a sinistra, assai più piccoli, più chiari, meno sporgenti, pure muniti ciascuno di una setola scura, altre due piccole setole si trovano nella parte sternale; sul meso e metatorace mancano gli spiracoli tracheali. Le zampe sono abbastanza robuste, bianco-gialle alla base, bruno-nere nella metà distale del terzo articolo, compreso l'unguicolo. L'addome è formato di 10 uriti; i primi quattro sono leggermente più grandi rispetto agli anelli del torace, gli altri vanno restringendosi rapidamente in modo che la larva appare notevolmente più larga e convessa nel mezzo e assottigliata verso l'estremità posteriore. Le pseudo-zampe si trovano sugli uriti 3, 4, 5, 6 e sul 10, sono poco pronunciate, di color verdolino pallido. Sulla parte tergale del primo urite non vi sono tubercoli evidenti ma solo sei setole e qualche pelo corto laterale; mentre sugli uriti successivi sino al decimo vi sono dei tubercoletti scuri con setole simili a quelli dei segmenti toracici, ma più piccoli. Lateralmente agli uriti da 1 a 8 si trovano gli spiracoli tracheali orlati di bruno.

La larva matura si distingue perchè ha setole e peli più corti, più chiari e meno numerosi; sulla parte dorsale del torace e dell'addome vi è una sottile linea più o meno accentuata di colore vinoso e due fasce laterali (una per parte) sinuose, sfumate, interrotte, variabili da individuo ad individuo, di color violaceo-vinoso pallido. Le zampe toraciche sono nere ed il bordo cogli uncini

delle pseudozampe è pure nero: nella larva dopo l'ultima muta è più accentuato il rigonfiamento mediano del corpo.

Descrizione della crisalide

Lunghezza mm. 7 a 9; larghezza massima mm. 2 a 2,5 (fig. 6, 7), di forma alquanto tozza, di color bruno-castano colla parte sternale dell'addome giallastra-ocracea; anche gli occhi e le antenne sono un po' più chiare; le antenne seguono esattamente il margine ventrale delle ceratoteche sino all'estremità di queste dove si ripiegano un po' verso l'interno. La parte tergale è fortemente granulosa e munita di cortissimi peli chiari. I tre uriti mediani presentano lungo il margine distale un cercine in rilievo a granulazione molto fina che occupa la zona tergo-pleurale. L'ultimo urite è arrotondato e porta due punte laterali, una per lato, corte e coniche.

Biografia

Il genere di vita di questa piccola nottua, non è ancora stato studiato da noi. Le poche notizie date in proposito dal Rogenhofer per l'Europa centrale e riportate dallo Spuler e da altri Autori, sono incomplete e non corrispondono in tutto alle osservazioni da me fatte in Piemonte.

Questa farfalla, sia allo stato adulto sia allo stato larvale, vive esclusivamente sul *Populus alba*. Gli adulti da noi sfarfallano nella seconda metà di giugno: lo sfarfallamento avviene da una fessura lineare longitudinale situata ad un polo del bozzoletto, fessura che preesiste nel bozzolo, lasciata dalla larva prima di incrisalidare ma con le labbra vicine e chiusa da un sottile velo; la farfalla neonata spingendo col capo e col torace rompe il velo e divarica le labbra della fenditura in modo da sortire all'esterno ancora bagnata e colle ali non sviluppate; la fessura quindi spontaneamente si socchiude in parte in modo che è facile riconoscere un bozzolo sfarfallato da uno che contiene ancora la crisalide.

Lo sfarfallamento si verifica in mattina, quando la temperatura è già un po' elevata, in genere verso le 10 o le 11. La farfalla appena uscita dal bozzolo rimane quasi immobile sinchè si è asciugata e le ali si sono completamente distese; allora camminando lentamente sui rami e sulle foglie dei pioppi e fermandosi ad intervalli cerca un luogo adatto per nascondersi in attesa che sopraggiunga la notte, perchè ha costumi notturni. Di giorno sta immobile colle ali piegate a tetto posata sulla pagina superiore delle foglie dove queste sono fitte, in modo da essere protetta dalla luce e dai raggi solari dalle foglie sovrastanti; sia per questo motivo, sia pel fatto che ha un colore che imita grandemente il bianco ed il verde del pioppo bianco, è assai difficile poterla vedere; anche scuotendo i rami difficilmente abbandona il suo nascondiglio, disturbandola proprio da vicino o si lascia cadere al suolo restando immobile fra le erbe fingendo la morte o con un breve volo si sposta per cercare un altro nascondiglio. La farfalla vola esclusivamente di notte senza però allontanarsi dagli alberi di pioppi sui quali trova il proprio nutrimento utilizzando i liquidi zuccherini che facilmente sgorgano da piccole screpolature della corteccia.

Dopo pochi giorni dallo sfarfallamento si verifica sulle foglie stesse dei pioppi l'unione dei sessi che dura parecchie ore durante le quali i due individui stanno immobili uniti uno in senso opposto all'altro lungo il medesimo asse colle ali piegate sul dorso in modo che le estremità delle ali del maschio coprono in parte quelle della femmina. Un giorno o due dopo la fecondazione si inizia la deposizione delle uova; ciò avviene nell'ultima settimana di giugno e nella prima di luglio. La femmina, per deporre le uova, si porta sulle gemme più alte dell'albero, quindi se si tratta di piantine di un anno in vivaio, si porta sulla gemma apicale del fusto, se si tratta di piante più sviluppate, sulle gemme apicali dei rami, con preferenza per quelli più giovani e più elevati. La femmina insinua il suo uovo nella sutura che corrisponde all'unione delle due foglioline esterne della gemma: su ogni gemma viene deposto un solo uovo, rotondo a superficie liscia, verde-ialino, del diametro di circa mezzo millimetro. Sulla stessa gemma può venire deposto un secondo uovo da un'altra femmina, e raramente un terzo da altra femmina ancora; normalmente però in una gemma non si trova che una larva sola nata dall'unico uovo deposto.

La larvetta appena nata è lunga poco più di un millimetro, grigia con capo nero notevolmente grosso; essa rode subito le labbra che uniscono le due foglioline praticandovi un minuscolo foro per penetrare nell'interno, ovvero più





Fig. 5 - Adulto maschio di Earias Vernana. — *Fig. 6 - Crisalide vista dal lato ventrale.* — *Fig. 7 - Spoglia di crisalide sfarfallata vista di lato.* — *Fig. 8 - Larva subito dopo la III muta vista dal dorso.* — *Fig. 9 - Larva vista di lato. [Tutte ingrand. 7 volte]*

frequentemente passa attraverso spazi liberi nei punti dove il margine delle due foglie non combacia. Giunta nell'interno la larva, mediante fili sericei, unisce il margine delle due foglie esterne, in modo che queste non si possono più aprire, quindi incomincia a nutrirsi rodendo la piccola gemma apicale ed il parenchima della pagina superiore delle due foglie saldate. La parte interna viene in tal modo distrutta e rimane piena di escrementi neri, mentre le due foglie esterne non si aprono più e seccano (fig. 2); la larva fatta più grossa rode anche l'apice tenero e carnoso del ramo che portava la gemma.

Dopo l'ultima muta la larva esce dal suo nascondiglio e si porta all'aperto sulle foglie vicine alla gemma apicale e ne rode il parenchima rispettando le nervature (fig. 1); con tale nutrizione completa il suo sviluppo, quando ciò le occorra.

Giunta così a maturazione cerca un luogo adatto per fabbricarsi il bozzolo, senza allontanarsi molto dall'apice stato rovinato. Il bozzolo viene costruito nella pagina inferiore delle foglie (fig. 3) specialmente dove queste sono fitte, ovvero aderente ai piccoli rametti od ai piccioli delle foglie in vicinanza degli angoli ascellari. Il bozzolo raggiunge la lunghezza di mm. 10 a 13 ed una larghezza massima di mm. 4; dalla parte inferiore dove aderisce alla foglia è piano, dalla parte superiore è convesso, fatto un po' come la chiglia di una barchetta; la parte anteriore (corrispondente alla posizione del capo della crisalide) è più elevata e presenta il margine anteriore ampio quasi ad angolo retto con la base; in questo margine anteriore si trova la fessura verticale praticata dalla farfalla uscita; nella metà posteriore il bozzolo si assottiglia alquanto e il dorso scende con dolce declivio.

Le pareti del bozzolo sono formate da due involucri, uno interno liscio con lucentezza un po' sericea, di color ocraceo, ed uno esterno aderente al primo, rugoso, di colore più chiaro (fig. 4) o più scuro (fig. 3); spesso la parte esterna è coperta di lanuggine bianca tolta dalla pagina inferiore delle foglie sulle quali il bozzolo viene costruito. Le larve sono mature ed iniziano la costruzione del bozzolo verso la fine di luglio, in media dal 20 luglio a fine mese. Le crisalidi sfarfallano dopo circa una decina di giorni, quindi lo sfarfallamento della prima generazione si verifica nella prima decade d'agosto.

Le farfalle della prima generazione si comportano come quelle sfarfallate in giugno, in modo che ne segue una seconda generazione di larve le quali raggiungono la loro maturità e si costruiscono il bozzolo verso la metà di settembre. Le crisalidi passano l'inverno chiuse nei bozzoli aderenti alle foglie cadute sul terreno o aderenti ai rami dell'albero, e le farfalle di questa seconda generazione sono quelle che sfarfallano il giugno successivo. Si hanno quindi due generazioni abbastanza nettamente distinte, in modo che gli adulti si trovano solo in due epoche dell'anno, mentre le cose vanno diversamente per la specie affine dei salici per la quale l'ovodeposizione si protrae per un tempo molto lungo in modo che, in ogni mese della bella stagione, si possono trovare larve di diverse età ed adulti.

Danni

I danni arrecati da questa nottua interessano in modo particolare le piante da vivaio, perchè sulle piante formate l'erosione delle gemme apicali dei rami giovani non arreca grave disturbo poichè l'ultimo ramo vicino alla gemma sostituisce nell'accrescimento il ramo arrestato. Nelle piante in vivaio invece, la gemma distrutta è quella all'apice della pianta in modo che si arresta l'accrescimento del fusto; anche qui è vero che il ramo laterale più prossimo alla gemma distrutta si può rialzare e sostituire la funzione del fusto, ma si ha una deformazione poco piacevole ed un ritardo di accrescimento. Danni di questo genere furono notati nel 1936 in vivài del Piemonte dove otto piante su dieci, in media, erano attaccate.

Rimedi

Non è possibile poter colpire la larva con insetticidi di contatto o veleni di ingestione quando è entrata in mezzo alle due foglie tenute assieme dai fili sericei. Le irrorazioni alle gemme fatte prima della schiusura delle uova non possono servire molto perchè la larvetta appena nata per penetrare tra le due foglie non ha bisogno di rodere entrando da fessure che restano dove i margini delle due foglie non combaciano. Un metodo consigliabile e che è stato sperimentato con buon successo consiste nel preparare in un piccolo recipiente uno

soluzione saponosa di estratto di tabacco, quindi passando da una pianta all'altra nella fila in vivaio (dove le pianticelle raggiungono un'altezza di 1 a 2 m.), se si osserva un fusto con le due foglioline apicali saldate in modo tipico facilmente riconoscibile, si inclina il fusto e si immerge completamente l'apice nella soluzione contenuta nel recipiente lasciandovelo per qualche istante; la soluzione in tal modo penetra nell'interno ed uccide la larva. L'operazione è rapida, richiede poco consumo di materiale e la pianta la sopporta.

Sarebbe pure consigliabile, qualora fosse attuabile, tenere accesa di notte nel vivaio, durante il periodo di sfarfallamento, una luce viva sovrastante un piatto largo e poco profondo contenente acqua con un velo di petrolio. Le farfalline che sono attirate dalla luce, volando attorno alla medesima, dovrebbero cadere nel piatto e rimanere in tal modo catturate.

G. Della Beffa.

BIBLIOGRAFIA

Altum: Neue Erfahrungen an schädlichen Weideninsekten. - Ebenda, 1882.

Barbey A.: Traité d'Entomologie Forestière. - Paris, 1925.

Boselli F.: Elenco delle specie d'Insetti dannosi e loro parassiti ricordati in Italia dal 1911 al 1925. - Portici, Stab. Tip. E. Della Torre, 1928.

Cecconi G.: Manuale di Entomologia forestale. - Padova, 1924.

Costantini A.: Note sui Lepidotteri dell'Emilia. - Atti Soc. Nat. Mat. Modena, serie V, Vol. V (LI), 1919-20, pag. 1.

Curò A.: Saggio di un catalogo dei Lepidotteri d'Italia. - Boll. Soc. Ent. Ital., 1874.

Dannehl F.: Beitrage zur Macrolepidopteren. - Fauna Südtirols, III Teil Nolidae-Hepiolidae. - Entomolog. Zeitschrift Frankfurt am Main, XXXXIII, pag. 225.

Escherich K.: Die Forstinsekten Mitteleuropas. - III Vol., p. 762. - Berlin, 1931.

Hering M.: Die Tierwelt Mitteleuropas. - Insekten 3 teil, IV Band, 3 Lief. - Schmetterlinge. Quelle e Meyer, Leipzig.

Leonardi G.: Elenco delle specie di Insetti dannosi e loro parassiti ricordati in Italia fino all'anno 1911. - Portici, Stab. Tip. E. Della Torre, 1922 a 1928.

Ratzeburg J. T. C.: Lehrbuch der Mitteleuropäischen Forstinsektenkunde. - Berlin, P. Parey, 1885, p. 778.

Rocci U.: Contribuzione allo studio dei Lepidotteri del Piemonte. - Atti Soc. Lig. Sc. Nat. - Genova, Vol. XXIV, 1913, pag. 131.

Rogenhofer: Verhand, Zool.-bot. Geselchaft. Wien 1869, pag. 917.

Seitz A.: Die Gross-Schmetterlinge des palaearktischen Faunengebietes. - Stuttgart, 1913.

Sorauer P.: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. - Vol. IV, parte I, pag. 390. - Berlin, P. Parey, 1925.

Spuler A.: Die Schmetterlinge Europas. - Vol. II, pag. 125. Stuttgart, 1910.

Staudinger O. e Rebel H.: Catalog der Lepidopteren des palaearctischen Faunengebietes. - Berlin, R. Friedländer u. Sohn, 1901.

Turati E.: Contribuzioni alla fauna d'Italia e descrizione di specie e forme nuove di Lepidotteri. - Atti Soc. Sc. Nat. Milano, Vol. LIII, 1914, p. 486.

- Cinque anni di ricerche nell'Appennino Modenese. - Note di Lepidotterologia. - Id., Vol. LXII, 1923, pag. 19

SEMI DA GIARDINO VEICOLO DI CUSCUTA

La decorsa annata, in uno dei consueti giri per ispezioni fitopatologiche, ho avuto occasione di constatare un'improvvisa, grave infestazione di *Cuscuta americana* o *Cuscuta grossa* in località della periferia di Torino, sinora rimasta esente dal parassita, infestazione che merita segnalare per vari motivi.

Trattasi di uno dei più antichi e vasti stabilimenti ortofloricoli, regolarmente sottoposto a controllo fitosanitario, nel quale eseguii il sopraluogo consueto primaverile. Accertai così la veridicità di quanto aveva dichiarato il proprietario, che cioè le coltivazioni di garofani cinesi (*Dianthus sinensis*) di rose d'India e di garofani d'India (*Tagetes erecta* e *T. patula*) erano infestate da una cuscuta, per la prima volta comparsa nel fondo e rapidamente sviluppatasi.

Il vigoroso fusto filamentoso giallo-verdastro, ma per lo più aranciato, con diametro superiore ad un millimetro, sebbene non fosse ancora in fioritura, faceva subito arguire trattarsi di cuscuta americana.

Le piante colpite, mi informava il proprietario, erano state ottenute da semi fatti arrivare da Napoli. Egli le aveva tenute in cassoni, coperti da vetri, e quivi lasciate in attesa di metterle a dimora o di utilizzarne il prodotto.

Verso la fine di maggio è apparsa l'infestazione di cuscuta, prima su alcune piantine di *Dianthus*, dalle quali i filamenti si sono propagati alle vicine colture, allacciando piante di *Tagetes*. In giugno si aveva un denso intreccio di filamenti, fattisi d'un giallo arancione più carico, ora vistosissimo, sospesi da una pianta all'altra per tutta la larghezza e la lunghezza dei cassoni, senza formazione di rami rasenti al suolo. Il portamento eminentemente volubile dei fusti di questo parassita faceva sì che sempre più numerose e più dense spire avvolgessero l'ospite dal colletto sino ai primi bottoni fiorali che si sforzavano di schiudersi (fig. 1).

Nella seconda decade di giugno il parassita ha iniziato una esuberante fioritura, raggiungendo in luglio il massimo della produzione di capsule tetrasperme, che già erano in gran parte giunte allora a maturità.

La pianta ospite invece, quasi arrestata nel suo sviluppo, produsse qualche misero fiore stremenzito, senza pregio alcuno, il quale non riuscì neppure a maturare i semi.

Non avevo ancora mai notato in Piemonte tra le matrici della Cuscuta americana, che da un decennio vado seguendo nella sua propagazione, le specie *Dianthus sinensis*, *Tagetes indica* e *T. patula* (1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11), nè mi risulta che altri le abbiano ricordate altrove.

L'insospettata comparsa del parassita nella località non può essere spiegata che nella sola maniera/ accennatami dal conduttore dello stabilimento.

La modalità della coltivazione stessa rendeva impossibile od assai difficile un inquinamento secondario per via vegetativa e, d'altra parte, non si era sviluppata mai, come ho detto, specie alcuna di Cuscuta in quel terreno. Nè un fortuito trasporto a grande distanza dei diafanissimi filamenti è ammissibile, sia perchè il terreno, in recinto separato dai campi attigui, non poteva essere attraversato da persone estranee, nè da animali, molto meno da veicoli agricoli, sia perchè i campi confinanti o viciniori, coltivati a cereali o ad ortaggi, non presentavano possibili ospiti per la cuscuta. L'ispezione fatta alla zona mi ha permesso di accertare che, anche nella stagione in corso, non esisteva Cuscuta americana sulla flora spontanea di fossati e degli incolti, come accade spesso di notare in altre località non lontane da prati di foraggere. È certo quindi che si tratta di una infestazione diretta per inquinamento esistente già nei semi di *Dianthus* pervenuti dal Napoletano.

La vigilanza esercitata, in ottemperanza alla legge fitopatologica, sulla circolazione e sul commercio dei semi, che possono essere *veicolo di cuscuta*, è rivolta, si può dire, quasi esclusivamente alle semenzine da prato e, come è naturale, specialmente alle leguminose foraggere. In pratica infatti queste soltanto sono portate in esame a tal riguardo presso i Laboratori di analisi autorizzati. Dai commercianti di semenzine più ossequienti alle disposizioni di legge, è fornita la indicazione di un certificato di analisi per le partite di leguminose da prato. Gli stessi Delegati incaricati di detto servizio di vigilanza riterrebbero certamente superfluo e forse anche assurdo rivolgere su altri semi, che non siano leguminose foraggere, la loro attenzione a tale proposito, tanto più su quelli da giardino, ritenendoli non atti a propagare la perniciosa fanerogama parassita.

Questi motivi mi hanno indotto a richiamare l'attenzione sul caso osservato, non privo di interesse pratico, sia per i floricultori, sia per chi si adopera ad ostacolare la così facile diffusione della Cuscuta americana, la più polifaga e la più temibile tra le congeneri.

Dalle coltivazioni di piante ornamentali come *Dianthus*, *Tagetes*, *Salvia*, *Aster* (4, 7) ecc., i cui semi, se non selezionati, possono essere veicolo di cuscuta, come il presente caso ha dimostrato, essa finirebbe prima o poi mediante le facilissime contaminazioni per via vegetativa, di raggiungere qualche prato di leguminosa, con i disastrosi effetti ben noti. Cosa questa che frusterebbe il lavoro utile di vigilanza sul dilagare del parassita a favore del, tanto auspicato, maggiore incremento nella produzione foraggera.

* * *

Per i caratteri morfologici questa cuscuta americana corrisponde alla nota *Cuscuta pentagona* Engelman — *C. arvensis* Beyrich — *Epithymum arvense*

(Bey.) Niewland e Lunell) la più diffusa in Piemonte che, dalle ricerche sinora effettuate, è risultata la sola specie americana esistente nella regione ed anche la più nociva alle foraggere.

Studiata nei suoi più minuti caratteri floreali e comparata con le varietà descritte di *C. pentagona* la specie raccolta sul *Dianthus*, offre tuttavia qualche variazione, sopratutto per la morfologia del calice, rispetto alla forma più comune nelle leguminose foraggere, caratteri che, solo il confronto di due forme spiccate, ora rinvenute, fa rilevare nettamente, sebbene variazioni meno sensibili e incostanti avessi già notato in passato (7) sulle quali non mi ero soffermata.

Riportandomi alle suddivisioni distinte da Yuncker (2) la specie presenta, nella regione di origine, le seguenti varietà:

1) *C. pentagona typica* (= *C. pentagona microcalyx* Eng. (1845) = *C. arvensis pentagona* Eng. (1859) = *C. globularis* Nuttall (1859));

2) *C. pentagona calycina* Eng. (1845) = *C. arvensis calycina* Eng. (1859));

3) *C. pentagona verrucosa* Eng. (= *C. verrucosa glabrior* Eng. (1842) = *C. arvensis verrucosa* Eng. (1859));

4) *C. pentagona pubescens* Eng. (= *C. arvensis pubescens* Eng.).

Le prime due varietà *typica* e *calycina*, per avere le parti del fiore lisce, sono contrapposte alle ultime due *verrucosa* e *pubescens*.

La *C. typica* ha fiori più piccoli della *C. calycina*, ha lobi calicini piani triangolari, arrotondati, per lo più lievemente inferiori al tubo corollino. Nella var. *C. calycina* i fiori sono un po' più larghi, con lobi calicini ovato-arrotondati, per lo più lunghi quanto il tubo corollino. Ma il carattere distintivo più saliente, che ho notato, negli esemplari raccolti in Piemonte, si trova nell'insenatura dei lobi calicini, i quali nella varietà *C. typica* formano una specie di angolo sovrapponendosi in parte (fig. 6), mentre nella *C. calycina* non presentano sporgenza all'insenatura, perciò, di solito, non si sovrappongono. Questo carattere (fig. 5) è pressochè costante nella forma del *Dianthus* insieme a quello dei lobi calicini più lunghi, più slanciati, ricoprenti il tubo corollino (fig. 2, 3, 4) e permette quindi di identificarla alla varietà *C. calycina* Eng. La *cuscuta pentagona*, maggiormente diffusa nei prati di leguminose, corrisponde piuttosto alla varietà *C. typica*. Ritengo probabile però che la forma *C. calycina* non manchi anche sulle leguminose e su altre matrici.

Nessuna differenza morfologica od istologica esiste nei semi (fig. 7).

*
* *

Riguardo all'influenza esercitata da questa Cuscuta sulle piante ospiti *Dianthus* e *Tagetes*, è da notare come essa sia stata diversamente nociva in Piemonte e nell'Italia meridionale.

Siccome è da escludere assolutamente l'ipotesi di un inquinamento fortuito dopo la raccolta del seme di *Dianthus* pervenuto dal Napoletano, per il fatto, già detto, che l'infestazione ha avuto inizio da più focolai, presentatisi contemporaneamente su piante fra loro distanziate, appunto perchè parecchi erano i semi inquinanti per un attacco diretto del parassita alle piante madri, è evidente che queste hanno potuto, non solo effettuare la fioritura, ma maturare regolarmente il seme, con un grado normale di germinabilità, riscontrato nelle semine piemontesi.

Il clima della decorsa stagione in Piemonte è stato particolarmente umido e frigido ed ha bensì influito sfavorevolmente, come su tutta la vegetazione, anche sulle piante florifere. Ma è certo che le piante di *Dianthus* e quelle di *Tegetes*, sorprese dal parassitismo della cuscuta nel loro pieno accrescimento, quando nei tessuti non erano immagazzinati ancora materiali di riserva sufficienti a sopperire, tanto al depauperamento parassitario, quanto alle esigenze della fioritura e della fruttificazione, non sono riuscite a completare il ciclo vitale.

Pur non essendo essiccate, esse hanno palesato il massimo deperimento al periodo della fioritura, tanto da averne impedita la fruttificazione, sotto l'influenza del rapido sviluppo esuberante della cuscuta che fioriva e fruttificava copiosamente.

Perciò in Piemonte sarebbe stato evitato naturalmente il pericolo di una ulteriore propagazione della cuscuta a mezzo dei semi dell'ospite, come è avvenuto dall'Italia meridionale verso la settentrionale.

Quanto si è verificato in clima particolare, ritardante lo sviluppo della vegetazione, non si può tuttavia generalizzare. Ritengo anzi probabile che, anche in Piemonte, in condizioni di clima normali, meno lontane da quelle dell'Italia meridionale, la cuscuta continuerebbe a diffondersi con le contaminazioni dei semi.



Fig. 1 — Sommità fiorite di Dianthus sinensis parassitato da Cuscuta pentagona *Eng.* *(legg. impiccolite).*



Fig. 2 - Giovane fiore di Cuscuta pentagona *v.* calycina *(ingr. 18 diam circa). — Fig. 3 e 4 - Calice completo disteso e 4-5 della corolla con stami e squame ipostaminali (ingr. 18 diam. circa). — Fig. 5 - Portamento dei lobi calicini all'insenatura nella* C. calycina *Eng. — Fig. 6 - Portamento dei medesimi nella* C. typica *Eng (ingr. 35 diam. circa). — Fig. 7 - Sezione del seme di* C. pentagona *v.* calycina *con tegumenti seminali (a) endosperma (b) (ingr. 140 diam circa).*

Dopo la distruzione dei residui delle piante infestate nelle dette colture fiorifere, i copiosi semi di cuscuta caduti nel terreno, sono stati devitalizzati, mediante abbondanti irrorazioni di formalina del commercio in soluzione acquosa al 3%; per cui non è da temere la ricomparsa nella prossima stagione.

***

Su questo caso dunque di infestazione di Cuscuta americana è da rilevare quanto segue:

1) la comparsa di *Cuscuta pentagona* in zona sinora rimasta esente è stata determinata da semi di *Dianthus* inquinati con seminuli del parassita, provenienti dall'Italia meridionale (Napoletano);

2) fra i numerosi ospiti già ricordati della cuscuta americana vanno annoverati anche i generi *Dianthus* e *Tagetes*;

3) questa cuscuta è riferibile alla varietà *C. calycina*, distinguibile dalla forma più comune delle leguminose foraggere, corrispondente a *C. typica*, per i particolari caratteri del calice (mancanza di sovrapposizione dei lobi all'insenatura);

4) l'influenza più o meno nociva del parassita su detti ospiti, dipende dall'andamento climatico, nel senso che il danno è accresciuto nelle stagioni ed in quei climi, proprii delle regioni settentrionali, determinanti una fioritura ritardata;

5) poichè anche i semi di piante da giardino messi in commercio, possono essere veicolo di cuscuta, è bene siano sottoposti, come le leguminose foraggere, allo stesso controllo nei riguardi della purezza, secondo le disposizioni di legge.

Ciò deve richiamare l'attenzione dei floricoltori ad essere guardinghi nell'acquisto dei semi, garantendosi mediante analisi dell'assenza di Cuscuta prima di eseguire le semine, ed anche sulle necessità di denunciare (art. 7, legge 18-6-1931, n. 987) la comparsa nella propria azienda di simili infestazioni, per la pronta e sicura eliminazione del nuovo centro di diffusione del tanto temuto parassita.

Dott. VIRGINIA BONGINI.

BIBLIOGRAFIA

1) D'IPPOLITO G.: La Cuscuta arvensis Beyr. e i suoi ospiti. - Staz. Sper. Agr. Ital., Vol. XLVI, 1913, p. 540.

2) YUNCKER T. G.: Revision of the North American and West Indian species of Cuscuta. - Illinois Biological Monographs - Aprile-luglio 1920, Vol. VI, n. 2, 3.

3) VOGLINO P. e BONGINI V.: Le cuscute delle piante foraggere coltivate in Piemonte. - Atti R. Accad. Agr. Torino, Vol. LXVII, 1925, p. 1-22.

4) FERRARIS T.: La Cuscuta pentagona Eng. sulla Salvia coccinea. - Curiamo le piante, II, 8, Torino, 1925, pag. 128.

5) PASSERINI N.: Sopra la Cuscuta pentagona Eng. volg. C. grossa. - Boll. R. Ist. Sup. Agr. Pisa, 1929, Vol. V, p. 243.

6) BONGINI V.: Esperienze contro la cuscuta. - Ann. R. Accad. Agr. Torino, Vol. LXXII, 1929, p. 11-28.

7) BONGINI V.: Della Cuscuta americana. - Boll. Labor. Sper. di Fitopatol., n. 5, Torino 1930, p. 1.

8) BONGINI V.: Osservazioni sulla cuscuta americana nel 1930-31. - Boll. Labor. Fitop., n. 5, Torino 1931, p. 3.

9) BONAVENTURA G.: Contributo alla conoscenza del parassitismo della Cuscuta pentagona. - Boll. del R. Ist. Sup. Agr. di Pisa, VI, 1939, p. 427.

10) BONAVENTURA G.: Cuscuta pentagona Eng. su nuove matrici. - Boll. R. Ist. Agr. Pisa, VII, 1932, p. 623.

11) MONTEMARTINI L.: Note di fitopatologia - Ospite nuovo di Cuscuta. - Rivista di Pat. Veg. XXV, 1935, p. 30.

Contributi alla patologia dei Pioppi

IV.

Un disseccamento di piantine di Pioppo canadese e P. caroliniano

Intorno a PHYSALOSPORA POPULINA Maubl. ed una PHOMA sp.

Nello scorso aprile questo Laboratorio fu avvisato di una moria di giovani piante di pioppo manifestatasi a Villafranca Sabauda nei vivai dell'Istituto Nazionale per il miglioramento del Pioppo (Tenuta Pignatelli). Recatomi in sito constatai infatti la presenza, nei vivai del pioppo caroliniano, di parecchie piante ammalate; nei vivai di pioppo canadese la malattia era molto più ridotta mentre le altre specie e razze di pioppi erano immuni.

Due piantine di caroliniano malate (età 2 anni) vennero accuratamente levate dal terreno per le osservazioni in laboratorio; esse risultarono integre nel sistema radicale mentre la malattia era localizzata a parte del fusto. Nelle mie successive visite a Villafranca ho potuto seguire attentamente l'andamento della malattia.

Questa comincia a manifestarsi con un leggero imbrunimento della corteccia nella parte superiore del tronco, imbrunimento che a partire dall'apice si estende verso il basso tracciando la figura di un cuneo; man mano che il male procede la parte superiore della corteccia diventa più scura, prima di color bruno-marrone poi grigio-nerastra e contemporaneamente dissecca; il decorso della malattia è abbastanza rapido e nel periodo di pochi giorni la corteccia può disseccare completamente. Asportando la corteccia da un tronco malato, si osserva che il legno sottostante alla corteccia appena imbrunita (zona avanzante del male) presenta solamente delle striature brune (fig. 1) mentre più in su tutta la superficie del legno è di color marrone; procedendo verso l'alto l'imbrunimento interessa strati sempre più profondi del cilindro legnoso finchè nella porzione di tronco dove la corteccia è grigio-nerastra anche il legno è completamente secco, ha perso la sua durezza ed è diventato più leggero, quasi spugnoso e di color grigio più o meno scuro per striature grigio-nerastre molto evidenti su tagli longitudinali.

La porzione malata della corteccia si copre in breve tempo di numerose pustoline che attentamente osservate risultano di due tipi: sulla porzione di corteccia imbrunita (zona avanzante della malattia) le pustole sono sparse, piuttosto grosse e di colore grigio; osservando meglio si vede che esse sono formate da sollevamenti dell'epidermide che nelle pustole più grosse si lacerano in alto mettendo allo scoperto parzialmente un corpo nero sottostante (fig. 2); sulla corteccia già morta e secca le pustole sono più piccole, più numerose, disposte quasi regolarmente in lunghe serie longitudinali e di color scuro; con una lente si vede bene che ogni pustola è formata da un corpo nero quasi lucente, superficiale circondato da lembi di epidermide lacerata (fig. 3).

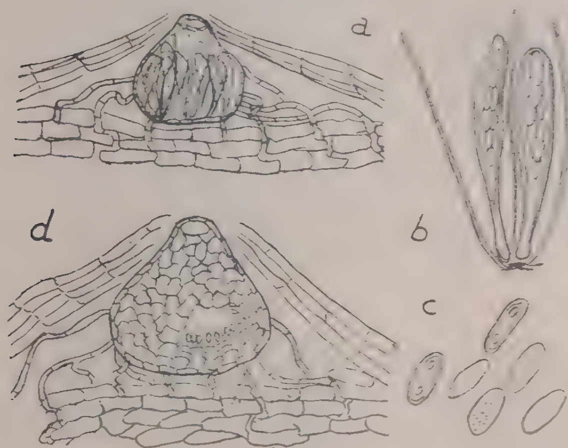
Le pustole grosse della zona avanzante della malattia sono riferibili a peritecii di uno *Sferiaceo*, quelle seriate più piccole delle porzioni secche della corteccia a picnidii di uno *Sferopsidale*.

I peritecii hanno forma subglobosa o piriforme e possono anche essere più o meno depressi o lenticolari per schiacciamento. Il loro diam. varia da 150 a 250 micr. in media, ma esistono pure corpi più grossi (fino ad un massimo di 350 × 750 micr.), e sono provvisti di ostiolo e quasi sempre di una breve papilla. Il peridio è nero opaco, di struttura paraplectenchimatica irregolare con cellule aventi diam. fino a 15 micr. e formanti due strati. La cavità del peritecio è tappezzata dagli aschi che sono regolarmente clavati, jalini, lunghi 70 micr., larghi da 10,5 a 13,5 micr., contenenti 8 spore delle quali le 4 mediane in posizione distica, le due estreme e quelle basali in posizione monostica. Tra gli aschi si trovano numerosissime parafisi jaline a protoplasma distintamente guttulato un poco più lunghe degli aschi.

Gli aschi hanno origine da processi parafisiformi jalini a protoplasma granuloso-guttulato che man mano ingrossano e si allungano mentre vanno assumendo la forma definitiva. Il loro contenuto si mantiene per lungo tempo nello stadio giovanile; solo quando hanno già quasi raggiunto le dimensioni dell'asco

adulto il loro contenuto si modifica differenziandosi in masse protoplasmatiche da cui hanno origine le spore. Queste ultime sono da prima irregolari e lisce, poi diventano granuloso-guttulate; le spore mature hanno forma largamente ellittica, sono jaline, liscie e presentano una grossa goccia rifrangente a ciascuna estremità. Esse misurano 14-20 × 6-7 micr. Le spore si colorano bene col bleu dianile in soluzione latto-fenolica mentre aschi e parafisi restano jalini.

I periteci restano immersi nel tessuto ospite per molto tempo, solo verso



a) Peritecio di Physalospora populina *Maubl.*
b) Aschi di Ph. populina *con parafisi.*
c) Ascospore di Ph. populina.
d) Picnidio di Phoma *sp.*

la maturità l'epidermide, che intanto si è sollevata a formare le caratteristiche pustule, si rompe, ed allora tra i lembi della epidermide lacerata sporge verso l'esterno la breve papilla del corpo fruttifero. Non raramente si trovano periteci binati cioè due o anche 3 corpi fruttiferi con peridii concresciuti. I tessuti corticali nella porzione occupata dai periteci, ed anche in quella imbrunita priva di corpi fruttiferi corrispondente alla zona avanzante della malattia, presentano profonde alterazioni nelle cellule: il citoplasma è in alcune di color giallo-bruno più o meno scuro, in altre fortemente coartato e ridotto alla zona parietale dove si condensa in grumi bruno-scuri. Alle alterazioni protoplasmatiche fa riscontro la deformazione delle cellule stesse, le quali, specialmente negli strati più esterni, assumono forme assai irregolari. Nelle cellule a clorofilla del parenchima corticale sono scomparsi i granuli clorofilliani ed in molte cellule è scomparso pure il nucleo.

In vicinanza dei periteci si osservano, tra le cellule dell'ospite, ife brunochiare più o meno fuligginose, cilindriche, abbastanza regolari, ramose e settate con diametro quasi costante di 5 micr. Tali ife, non molto abbondanti, si trovano esclusivamente nella zona occupata dai c. f. e sembrano avere in profondità un decorso limitato perchè si riscontrano solo negli strati periferici del parenchima corticale. Accanto a queste ife brune, che hanno sempre decorso strettamente intracellulare, si notano pure ife ialine più sottili e più numerose poco ramose e fortemente settate che si espandono, con decorso inter- e intracellulare, in tutte le direzioni nei tessuti corticali ed in profondità, e sono abbondanti specialmente nelle lacune formatesi dal distacco delle cellule deformate.

E' importante rilevare che il micelio della forma ascofora è limitata esclusivamente ai tessuti corticali. Nel legno sottostante alla zona invasa dal micelio non si riscontrano ife, la colorazione bruna superficiale che vi si osserva è dovuta a una reazione di contatto di natura chimica dovuta probabilmente a fenomeni di decomposizione dei composti fenolici che si trovano nel legno.

I picnidii sono globosi o subglobosi o piriformi, neri, con peridio a struttura paraclectenchimatica formato da cellule irregolari per forma e dimensione, distintamente ostiolati e, qualche volta, con un accenno di papilla; il diam. medio di questi corpi è di 150-165 micr. ma possono arrivare a diam. di 200 × 280 micr. La loro cavità è internamente tappezzata da brevissimi sporofori ialini che portano le picnospore. Queste sono ellittiche od ovoidali, continue, lisce e più spesso biguttulate, e misurano 5,5-7 × 3-3,5 micr. Le picnospore e gli sporofori si colorano bene col bleu dianile in soluzione latto-fenolica.

Il micelio della forma picnidica è costituito in gran parte da ife brune cilindriche, a diam. irregolare variante da 4-4,5 micr. a 10 micr., ramificate e settate. Nelle ife più grosse i setti sono più numerosi e più ravvicinati ed in corrispondenza di essi si nota spesso una più o meno marcata strozzatura onde le ife risultano formate da articoli brevi, falangiformi o addirittura monilioidi. Il decorso di queste ife è inter-intracellulare; esse invadono tutti i tessuti corticali non solo, ma si dirigono anche verso i tessuti più profondi, oltrepassano la zona cambiale ed arrivano al cilindro legnoso diffondendosi in tutti i tessuti. Nelle tracheidi le ife penetrano attraverso le aerolature ed ostruiscono, nello stadio più avanzato della malattia, tutto il lume delle cellule; anche i grossi vasi sono pieni di micelio. Le ife che si trovano nell'interno delle cellule assumono assai frequentemente la forma degli elementi invasi diventando ancora più irregolari.

Accanto alle ife brune si trovano pure ife ialine, sottili, analoghe a quelle già descritte per la forma ascofora; queste ultime sono molto scarse nel legno.

La forma ascofora or ora descritta corrisponde in tutti i caratteri ad un fungillo descritto dal Maublanc (1) sin dal 1907 « sur les rameaux morts » del pioppo della Carolina col nome di *Physalospora populina*. Lo stesso Autore trovò pure una *Phoma*, identica alla Sferopsidale da me trovata a Villafranca, che egli cita come una forma metagenetica della *Physalospora;* ma tale relazione non venne dimostrata.

Il Voglino (2), scrivendo della *Ph. populina* Maubl. (« in ramis corticalis » di pioppo canadese) non accenna di aver trovato anche una *Phoma*, anzi — ricordando che su questa matrice (pioppo della Carolina) il micologo francese descrive pure una forma picnidica (Phoma) senza però chiarire con culture speciali la concatenazione colla *Physalospora* — asserisce invece di aver trovato in vicinanza dei peritecii abbondanti picnidii di *Ascochyta populina* Del. Osservo subito che durante le mie ricerche, tanto sul pioppo della Carolina quanto sul pioppo del Canadà, ho costantemente trovato le due forme descritte dal Maublanc ma nessuna *Ascochyta*; infine mentre quest'ultimo Autore constata semplicemente di aver trovata la *Physalospora* sui rami morti del pioppo della Carolina, il Voglino — pure essendo riuscito ad ottenere la penetrazione delle ife nelle porzioni corticali e la produzione di abbondante micelio, collocando spore germinanti del fungillo sopra rametti vivi di pioppo canadese — si affretta ad aggiungere di aver trovato la *Physalospora* in natura sempre sui rami morti od in via di deperimento.

Si trattava dunque di stabilire:

1) Se esiste una relazione metagenetica tra *Physalospora* e *Phoma*;

2) l'eventuale natura parassitica o saprofitica dei due fungilli.

Ho cercato di risolvere questa questione mediante colture artificiali e mediante inoculazione su piante sane.

1 - Prove di coltura Physalospora

Germinazione delle ascopore.

Ascospore isolate da peritecii maturi vennero sospese in goccia pendente di decotto di corteccia (*) in camera umida di Van Tieghem e tenuti in termostato a temperatura di 25° C. Dopo 48 ore la maggioranza delle spore era germinata. La germinazione ha inizio con un leggero rigonfiamento di tutta la spora accompagnata quasi sempre dalla scomparsa delle guttulazioni mentre il protoplasma si fa finemente granuloso; poco dopo dalle due estremità avviene l'emissione del promicelio che è ialino e granuloso e contemporaneamente la spora si segmenta in due parti mediante un setto mediano; ho notato che questo setto mediano, molto evidente, non manca mai. In qualche caso ho pure osservato l'emissione di un terzo promicelio che può avere origine da qualsiasi punto della spora. I promiceli crescono rapidamente e dopo alcune ore essi hanno raggiunto una lunghezza di 40-60 micr. (o anche più); in questo momento i due tubicini sono identici, ialini, cilindrici, granulosi, con setti a distanza quasi regolare di 20-30 micr. circa; in seguito però le cose cambiano. Mentre

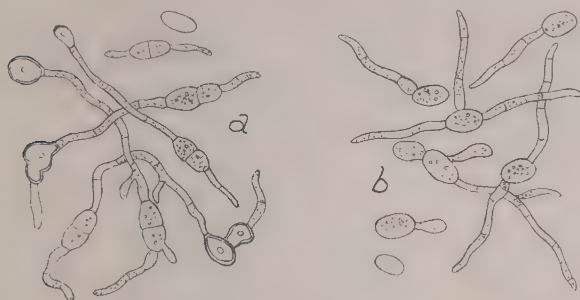
(*) Il decotto di corteccia venne preparato tagliuzzando in piccole porzioni della corteccia fresca di pioppo canadese e facendone bollire gr. 20 con 1000 cc. d'acqua per circa un'ora fino ad ottenere un estratto di color giallo chiaro, che venne filtrato e sterilizzato in autoclave a 110° C. per 10 minuti.



Fig. 1 - Fusto di Pioppo caroliniano scortecciato nella zona avanzante dell'alterazione. Si osserva l'imbrunimento superficiale del legno. (Alquanto ridotto). — Fig. 2 - Corteccia con peritecii erompenti di Physalospora populina. *(Ingr. 2:1). — Fig. 3 - Sezione di corteccia con peritecii di* Phys. p. *(Ingr. 40 diam) — Fig. 4 Porzione disseccata di P. caroliniano con picnidii di* Phoma *sp — Fig 5 - Corteccia con picnidii erompenti di* Phoma *sp. Ingr. 2:1 — Fig. 6 - Sezione di corteccia con picnidii di* Phoma *sp (Ingr. 40 diam.*

Fig. 7 - Micelio di* Phoma *sp. nel tessuto ospite (Ingr. 500 diam.)

uno dei tubicini continua ad allungarsi regolarmente l'altro si sviluppa assai rapidamente fino a superare il primo di due o tre volte in lunghezza emettendo anche qualche ramo laterale. Ma ad un certo punto l'accrescimento sembra subire un brusco arresto; nel medesimo tempo alla sua estremità compare un rigonfiamento quasi impercettibile da prima ma che rapidamente aumenta assumendo una forma sempre più distintamente sferica e un volume che spesso



a) Ascospore di Ph. populina *germinanti. I "corpi sferici" sono caratterizzati dalle pareti più grosse.*
b) Germinazione delle spore di Phoma *sp.*

supera di molto quello della stessa spora. Questo corpo sferico quando è completamente sviluppato è costituito da una parte spessa e lucente, non presenta le granulazioni del micelio ma un contenuto liscio ed al centro una goccia fortemente rinfrangente. Tali corpi sferici si formano all'estremità del promicelio più lungo dal quale assai per tempo si differenziano mediante un setto. Dopo una notte questi corpi sferici hanno a loro volta emesso un breve tubicino jalino, alla cui estremità dopo altre 12 h. si è formato un nuovo corpo sferico identico al primo.

Ho voluto ripetere la germinazione in acqua pura; ma qui il numero delle sopre germinate è stato piccolo, le spore non si sono segmentate, i promiceli si sono sviluppati normalmente (sebbene un po' più lentamente) senza però formare corpi sferici. Sembra quindi che il singolare modo di germinazione sia legato a particolari condizioni ambientali o meglio alla natura del substrato.

Colture su decotto di corteccia agarizzata

L'agar venne preparato aggiungendo al decotto 20% di agar in polvere, sterilizzando a 110° C. per 20' e distribuendo in tubi da saggio. Le colture vennero tenute a temper. di 18°-25° C. (temp. ambiente).

A 3 giorni dalla semina si era formata un piccolo feltro micelico bianco di tipo raggiato-fibroso largo 1,2 cm. Continuando lo sviluppo il feltro si estese e divenne grigio. Nel medesimo tempo il substrato, a partire dal punto di semina, prese una tinta bruno-scura e tale imbrunimento procedè estendendosi in superfice e profondità di pari passo con lo sviluppo in superfice del micelio, Tale imbrunimento si deve certamente mettere in relazione con l'attività dell'organismo il quale decompone le sostanze fenoliche contenute nel decotto e fa riscontro all'imbrunimento osservato nella corteccia e nel legno, cui si è già accennato.

Dopo 25 giorni tutta la superficie libera del substrato è occupata dal micelio che nella parte inferiore, a contatto con l'agar, è di colore grigio-nerastro, mente il micelio aereo è più chiaro e costituisce un feltro soffice alto circa 1 mm. Sulla placca micelica e specialmente agli orli, nella zona di contatto col vetro, si notano molti corpuscoli neri rotondi.

Al microscopio questi corpi risultarono di due tipi: alcuni erano perfettamente rotondi o piriformi, costituiti da un plectenchima di cellule bruno-scure delimitante una cavità piena di ife parafisiformi jaline; altri presentavano forme più irregolari, erano più grossi e costituiti interamente da uno stroma tipicamente paraplectenchimatico di cellule quasi isodiametriche nerastre. I primi di tali corpi sono da considerarsi peritecii in via di formazione; i secondi forme scleroziali. I peritecii non giunsero a maturazione nemmeno dopo 3 mesi.

Alcuni di questi corpi vennero trapiantati su altro decotto agarizzato, ma ne ebbi ancora sempre micelio, sclerozii e peritecii immaturi come nella prima semina. Solo al terzo trapianto, tenendo la coltura a temperatura di 12°-18° C., ottenni la formazione di numerosissimi peritecii tipici; lo sviluppo e l'aspetto della coltura è stato per altro identico a quelli descritti.

Osservato al microscopio il micelio è risultato costituito da due tipi di ife.

Nella parte aerea le ife sono jaline, sottili, cilindriche, poco ramificate, con setti molto distanziati e poco ramosi. Il diam. medio di tali ife è di 2-3,5 micr., il loro contenuto granuloso-guttulato ed esse hanno per lunghi tratti un andamento quasi rettilineo.

Il micelio a contatto col substrato e specialmente quello vicino ai corpi fruttiferi è formato da ife brune più o meno scure, con diam. molto variabile (da 2,5 a 5 micr.). Nei brevi tratti rettilinei esse sono cilindriche ed hanno setti piuttosto distanziati, in maggioranza però sono assai tortuose con setti piuttosto ravvicinati, che le dividono in articoli irregolari. Esse sono molto ramificate e frequentemente anastomosate. Le forme sclerоziali, subglobose-irregolari raggiungono un diam. di 300-500 micr. e sono costituite da uno strato esterno nerastro di cellule schiacciate e da uno stroma interno di cellule più chiare ma più grosse, formanti un tipico paraplectenchima.

I peritecii riproducono nella forma, nelle dimensioni ed in genere in tutti i caratteri l'aspetto dei peritecii in natura, con la sola differenza che in coltura essi sono più frequentemente gemini a due o tre (ed eccezionalmente anche 4) ed allora arrivano a formare masserelle del diam. di 260-300 micr.

E' importante il fatto che in nessuna delle colture ho potuto constatare lo sviluppo di altre fruttificazioni all'infuori dei peritecii.

2 - Prove di coltura con Phoma

Germinazione delle picnospore.

La germinazione delle picnospore (in goccia pendente di decotto di corteccia in camera umida di Van Tieghem a temp. di 21° C.) è stata rapida. Dopo meno di 10 h. la quasi totalità delle spore aveva prodotto il tubo promicelico. La germinazione è preceduta dal rigonfiamento delle spore che diventano granulose; l'aumento di volume può oltrepassare di 2-3 volte il volume primitivo. L'emissione del promicelio può avvenire in un punto qualsiasi della spora; si possono avere da 1 a 4 promiceli dalla stessa spora, è però più frequente la emissione di uno o due tubicini. Il procelio si sviluppa rapidamente; in poche ore può arrivare a 30-40 micr. di lunghezza e nel trattempo si setta e si ramifica. Si tratta evidentemente di una germinazione normalissima.

Coltura su agar.

Venne usato il decotto di corteccia agarizzato come sopra; uguali furono pure le condizioni di coltura.

Dopo 3 giorni dalla semina si era formato un feltro fibroso-raggiato bianco-niveo occupante una superficie circolare di circa 20 mm. di diam.; lo sviluppo procedè rapido ed al 20° giorno tutta la super. libera del substrato era uniformemente coperta da micelio. Questo si presentava scuro a contatto coll'agar, mentre il micelio aereo era bianco-sporco soffice; l'aspetto macroscopico della coltura era identico a quello di *Physalospora*. Dopo 25 giorni si formarono nella zona di contatto dell'agar col vetro, e nello spessore stesso dell'agar, numerosi corpi bruno-scuri rotondi dall'aspetto di fruttificazioni, che però risultarono formazioni di tipo sclerоziale; solo dopo 4 mesi si formarono veri picnidii; la deiscenza avvenne in masserelle bianco-ocracee.

Anche in questa coltura, come in *Physalospora*, l'agar nelle porzioni occupate dal micelio era bruno-scuro; dopo 25 giorni, quando cioè tutta la superficie dell'agar era invasa dal micelio, il substrato presentava in tutto il suo spessore tale imbrunimento; eseguiti i trapianti delle formazioni sclerоziali su altro agar-decotto, ebbi ancora abbondante sviluppo di micelio e corpi sterili, ma non picnidii.

Ulteriori trapianti con spore ottenute dalla prima coltura (coltura madre) mi diedero già dopo 2 settimane abbondante micelio e numerosi picnidi specialmente agli orli dell'agar e al fondo della coltura.

Il micelio risultò formato, nella parte aerea, da ife jaline identiche a quelle di *Physalospora*; nella parte a contatto con l'agar ed in parte immerso nel substrato, le ife sono di colore bruno più o meno scuro. Tali ife sono abbondantemente ramificate, settate ed anastomosate; in corrispondenza dei setti le ife presentano spesso una strozzatura per cui si formano articoli irregolari; il diam. medio delle ife è di 3,5-6 micr., ma vicino alle ramificazioni sono più larghe e possono arrivare a 10 micr. di diam. In certi casi i setti sono tanto vicini e le strozzature tanto marcate da ridurre il filamento in articoli rotondi di aspetto monilioide; in generale dunque il micelio bruno è formato da ife

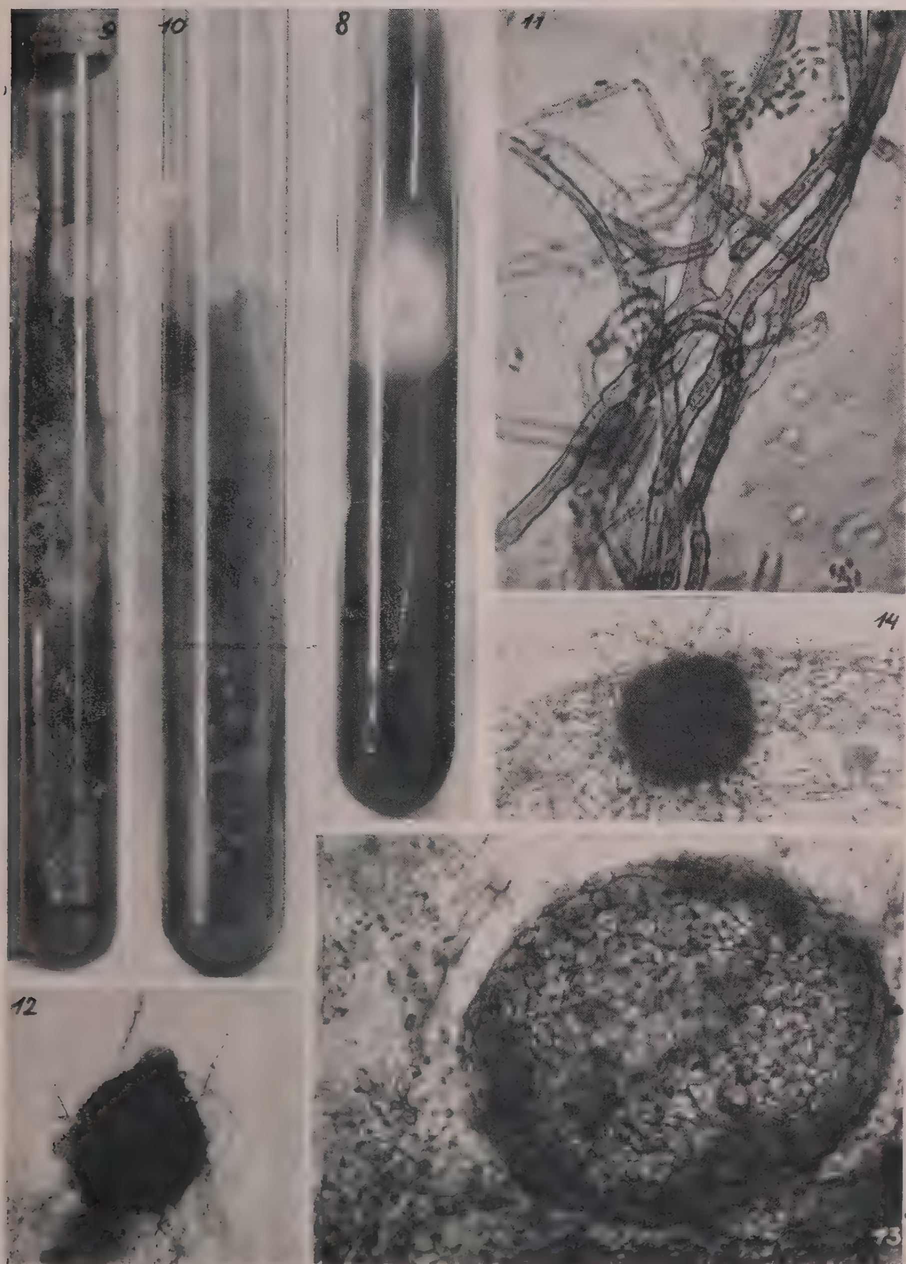


Fig. 8 - Coltura di Phoma *sp. su decotto di corteccia-agar. stadio iniziale. — Fig. 9 - Coltura di* Phoma *sp. da trapianto di legno infetto su decotto di corteccia-agar. Si vedono numerosi picnidii. — Fig. 10 - Coltura di* Phoma *sp. su decotto di legno agar. Sviluppo stentato dopo 2 mesi. — Fig. 11 Micelio di* Phoma *(ife brune) da colt. (ingr. 500 diam). — Fig. 12 - Picnidio di* Phoma *da colt. (Ingr. 100 diam). — Fig. 13 - Picnidio di* Phoma *da colt. Si distingue la struttura plectenchimatica del peridio. (ingr. 500 diam). — Fig. 14 - Peritecio di* Physalospora *(e ife brune) da colt. (ingr. 100 diam.)*

assai irregolari. In certe zone tale micelio forma intrecci fittissimi di articoli molto irregolari che vanno a costituire una specie di stroma di tipo prosenchimatico.

I picnidii e le spore sono identici a quelli osservati in natura.

Ho anche eseguito una coltura su decotto di legno di pioppo canadese agarizzato (*).

Si ebbe uno sviluppo molto stentato; dopo 25 giorni si erano formati su tutta la superficie dell'agar ciuffetti micelici nivei, fioccosi, circondati tutto intorno da grossi corpi fruttiferi neri. In queste colture non si ebbe l'imbrunimento del substrato.

Osservato al microscopio il micelio risultò alquanto diverso dalle precedenti colture. Le ife jaline erano un poco più grosse, con setti spesso ravvicinati, articoli irregolari, andamento tortuoso; le ife vicine ai corpi fruttiferi (ife nutritive) e quelle immerse nel substrato erano o jaline o di un bruno pallido simili del resto per diametro ed aspetto alle ife brune delle culture su decotto di corteccia agar con le quali certamente si possono identificare. I picnidii avevano diametri di 190-200 micr., erano di color bruno chiaro, con peridio sottile, formato da cellule costituenti un paraplectenchima. I picnidi liberi sono perfettamente globosi con ostiolo assai evidente; ma più spesso sono concresciuti in gruppi da tre a 20 presentandosi nell'insieme come masserelle irregolari con tante aperture simulanti ostioli papillati. Le spore sono identiche a quelle osservate in natura e nelle altre colture.

Coltura su liquido.

Ho pure eseguito una coltura di *Phoma* su liquido normale di Richard, usando a ciò spore di una coltura su agar (**).

Lo sviluppo è stato rapido. Dopo soli 12 giorni tutta la superficie del liquido era coperta da una placca micelica abbondante, nivea nella parte aerea, grigiastra nella parte a contatto del liquido. Dopo un mese la placca era aumentata di spessore e in essa si notavano assai abbondanti fruttificazioni. La placca presentava una consistenza cartilaginosa-membranosa ed era di colore nerastro; superficialmente il micelio aereo si mantenne di color bianco-sporco. Il liquido colturale era debolmente colorato in giallo.

I caratteri del micelio, dei picnidii e delle spore sono identici a quelli descritti nelle colture su agar di corteccia. La parte della placca a contatto del liquido è costituita da uno stroma formato da ife brune assai irregolari, ramificatissime e assai fittamente intrecciate.

Trapianto su agar del legno infetto.

Per assodare se il micelio così abbondantemente osservato nel legno infetto era riferibile alla *Physalospora* od alla *Phoma*, ho trapiantato frammenti di legno infetto prelevato assetticamente dalla porzione sottostante alla corteccia morta, su agar di corteccia.

Le colture si sono sviluppate rapidamente e sin da principio si sono mostrate identiche a quelle di *Phoma*, sia nell'aspetto macroscopico sia nei caratteri microscopici dell'organismo. Anche in questo caso il primo trapianto ha dato l'imbrunimento del substrato e, altra analogia con le colture di *Phoma*, non si sono formati picnidii ma corpi scleroziali. Trapiantando queste colture su altro agar di corteccia ebbi di nuovo colture analoghe a *Phoma* e questa volta abbondante sviluppo di picnidii.

I caratteri del micelio (ife jaline e brune) dei picnidii e delle spore erano in tutto identici a quelli descritti per *Phoma*.

3 - Prove d'infezione artificiale

Per verificare se *Phoma* o *Physalospora* si debbano considerare parassiti p. d. o semplici saprofiti ho eseguito prove di inoculazione artificiale.

A tale scopo nella primavera di quest'anno ho trapiantato in vaso una piantina di *pioppo canadese* prelevata dai vivai di Villafranca. La pianta è

(*) Il decotto venne preparato riducendo in pezzetti del legno fresco scortecciato che fatto bollire con acqua (gr. 20 di legno su 1 lt. d'acqua) per 1/2 ora filtrato e sterilizzato a 110° C. per 10', diede un liquido di color giallo oro chiaro.

(**) Ho usato 25 cc. del liquido in pallone di Erlenmayer da 100 cc.

attecchita bene sviluppando abbondante fogliame e mantenendosi perfettamente sana fino a luglio, epoca in cui ho eseguito le inoculazioni.

Per queste ultime ho seguito fedelmente la tecnica usata da Petri (3) nelle inoculazioni di *Deuterophoma tracheiphila* per il *mal secco degli agrumi*.

Benchè ripetute ad intervalli di due mesi le prove d'inoculazione artificiale con *Phoma* e *Physalospora* sono rimaste negative.

4 - Ricerche sugli enzimi di Phoma

Constatata la predominanza della *Phoma* negli organi alterati, ho ritenuto utile fare alcune ricerche intorno agli enzimi da essa elaborati. Mi sono limitato a ricercare solo la presenza di qualche fermento per ogni gruppo.

Lipasi

Venne seguito il metodo indicato da Grenn (4). Si preparò una emulsione di olio di mandorle (olio di mandorle 10 gr., gomma arabica 5 gr., acqua distillata 85 cc.) e si neutralizzò con NaOH. In due matracci segnati *A* e *B*, vennero messi 25 cc. di tale emulsione addizionandovi qualche goccia di tintura di tornasole; l'emulsione risultò leggermente colorata in azzurro. Il matraccio *A* servì per controllo, in quello *B* vennero aggiunti 5 cc. di liquido di coltura filtrato ottenuto da una coltura di *Phoma* su liquido normale di Richard dopo un mese di sviluppo (neutralizzato con NaOH n/10). Ambedue i matracci vennero tenuti in termostato a 37° C. Dopo 24 ore nel matraccio *A* (di controllo) l'emulsione era rimasta di color azzurrognolo, mentre nel matraccio *B* si osservava una netta colorazione rossastra, dovuta alla presenza degli acidi grassi messi in libertà dalla lipasi. Il risultato positivo della prova dimostra che il fungillo elabora una attiva lipasi allo stato di esoenzima.

Amilasi.

Ho seguito il metodo indicato dal Rosenthaler (5). Si preparò una soluzione di amido solubile (Kahlbaum p. p. a.) all'1% scaldandola per 20 minuti in autoclave a 120° C. In un tubo da saggio segnato *A* vennero messi 10 cc. di tale soluzione e 1 cc. di H_2O dist.; in un altro tubo segnato *B* ugualmente 10 cc. della soluzione di amido più 1 cc. di liquido di coltura ottenuto da una coltura di *Phoma* su liquido normale di Richard dopo un mese di coltura (neutralizzato con NaOH n/10). Eseguita su ambedue le soluzioni una prova in bianco per addizione di alcune goccie di iodoioduro di K, si ebbe per tutt'e due la colorazione blu caratteristica dell'amido. Vennero quindi allestiti come sopra altri due tubi che si tennero a bagno maria a 48° C. per un'ora. Ripetuti i saggi col iodio si ebbe nel tubo *A* (di controllo) la caratteristica colorazione blu dell'amido mentre il liquido nel tubo *B* prese subito una netta colorazione rosso-cognac. Tale reazione indica la demolizione della molecola d'amido con formazione di acrodestrina e dimostra che il fungillo elabora amilasi allo stato di esoenzima.

Saccarasi.

La ricerca di questa disaccarasi venne eseguita nel liquido di coltura ottenuto come sopra e nell'estratto di micelio. Per la preparazione dell'estratto di micelio ho usato una coltura di *Phoma* su liquido normale di Richard dopo un mese di coltura. La placca micelica abbondantemente lavata con acqua corrente venne sminuzzata, mescolata con polvere di vetro e quindi triturata in mortaio fino ad ottenere una pasta omogenea. Tale pasta venne estratta ripetutamente con acqua dist. calda e l'estratto venne filtrato in due tempi, ottenendo infine un liquido limpido di colore leggermente paglierino.

Separatamente venne preparata una soluzione di 200 cc. di saccarosio contenenti 5 gr. di saccarosio purissimo.

Si allestirono quindi 4 matracci come segue:

matraccio n. 1 — 25 cc. della sol. di saccarosio + 5 cc. di estr. di micelio;
matraccio n. 2 — 25 cc. della sol. di saccarosio + 5 cc. di estr. di micelio previamente bollito per 5 minuti onde distruggere l'enzima;
matraccio n. 3 — 25 cc. della sol. di saccarosio + 5 cc. del liquido di coltura;
matraccio n. 4 — 25 cc. della sol. di saccarosio + 5 cc. del liquido di coltura previamente bollito per 5 minuti.

Poichè il liquido di coltura usato poteva contenere glucosio (dovuto alla scissione enzimolitica del saccarosio usato come sorgente di C. nel liquido di Richard normale) ed anche l'estratto di micelio poteva contenere zuccheri riduttori, vennero eseguite prove in bianco sulle miscele dei palloncini 1 e 3. La

ricerca degli zuccheri riduttori in tali miscele venne eseguito quantitativamente col metodo di Bertrand, usando su complessivi 40 cc. (20 cc. della soluzione alcalina e 20 cc. di quella cuprica del liquido di Bertrand, 20 cc. della miscela da analizzare. Su 20 cc. della miscela 1 si riscontrarono circa 8 mg. (0,04%) di zuccheri riduttori (calc. come glucosio), e circa 10 mg. (= 0,05%) di glucosio su 20 cc. della miscela 3.

I quattro matracci vennero quindi tenuti in termostato a 37° C. per 48 ore.

Dopo questo tempo vennero ripetuti i saggi per gli zuccheri riduttori, usando 20 cc. delle singole miscele per complessivi 40 cc. del liquido di Bertrand. Nel matraccio n. 1 e n. 3 la riduzione fu completa mentre nei matracci 2 e 4 si ebbe un leggerissimo deposito di ossidulo di rame che proseguendo l'analisi risultò corrispondere all'incirca ai valori già trovati nelle prove in bianco.

Tali prove dimostrano che il fungillo contiene saccarasi allo stato di endozima (matraccio n. 1), ed allo stato di esoenzima (matr. n. 3).

Emulsina.

Per la ricerca di questo enzima ho eseguito colture del fungillo su mezzi contenenti, come sorgenti di C., esclusivamente glucosidi, e precisamente arbutina e salicina, preparati nella maniera descritta dal Servazzi (6).

Lo sviluppo nel liquido contenente arbutina fu debole. Dopo due settimane si era formato un tenue velo micelico di color nocciola che non occupava più di 1/5 della superficie libera del liquido; inferiormente tale velo era costituito da uno strato ialino mucillagginoso. Le ife erano di color bruno-chiaro, cilindriche, piuttosto regolari, ramose, con diam. di 3-4 micr., con protoplasma molto granuloso e abbondantemente provvisto di grosse goccie rinfrangenti (sostanze grasse) mancava qualsiasi fruttificazione.

A partire dal secondo giorno della semina il liquido di coltura cominciò ad imbrunire; dopo una settimana il liquido era completamente scuro mentre nella stessa epoca e nelle identiche condizioni ambientali (temp. del termostato 22° C.), il campione di controllo rimase inalterato.

Basterebbe già l'annerimento del liquido di coltura per dimostrare che il fungillo elabora un enzima capace di scindere idroliticamente l'arbutina in glucosio ed idrochinone, giacchè è appunto quest'ultimo composto che col tempo si altera per ossidazione in para-chinone che dà soluzioni scure. L'avvenuta scissione del glucoside era dimostrata pure dall'odore abbastanza spiccato e caratteristico di chinone che si percepiva nel matraccio contenente il liquido annerito. Ho però voluto ugualmente saggiare la presenza dell'idrochinone nel liquido di coltura e a tale scopo ho eseguito nel liquido filtrato (dopo una settimana di coltura) le seguenti reazioni:

1° ammoniaca - colorazione gialla poi rosso-bruna molto netta. Positiva;
2° cloruro ferrico - subito colorazione verde scura poi rosso-bruna. Positiva;
3° acido fosfomolibdico - pronta colorazione verde-smeraldo permanente. Positiva;
4° riduzione a freddo del liquido di Fehling. Positiva.

Nel liquido con salicina si ebbe un discreto sviluppo. Dopo due settimane la superficie libera del liquido era coperta da una sottile placca micelica bianca in qualche punto di color ocraceo; la parte inferiore di tale placca era costituita da uno strato mucilagginoso ialino abbastanza spesso. Verso il decimo giorno di coltura si formarono numerosi picnidii spiccanti sul fondo chiaro del micelio come tanti punti bruni isolati. Ogni sviluppo cessò verso il quindicesimo giorno.

Osservato al microscopio il micelio superficiale risultò costituito da ife del tipo normale, mentre il micelio sommerso presentava caratteri notevolmente diversi.

Le ife, cilindriche, larghe fino a 10 mm., di color bruno assai pallido, molto ramose hanno numerosi setti, tanto più ravvicinati quanto più chiare sono le ife. In quelli subialini i setti dividono le ife in articoli falangiformi o addirittura moniliformi. Tali articoli si staccano con gran facilità e vi sono estesi ammassi formati quasi esclusivamente da corpi subsferici derivati dal frazionamento delle ife; non è escluso che si tratti di clamidospore. I picnidii sono del tipo normale così pure le spore; sola differenza il peridio giallo-chiaro sottilissimo che si rompe con estrema facilità.

Dopo due settimane di sviluppo il liquido di coltura era di color giallognolo arancione. Su tale liquido, filtrato e portato con acqua distillata al doppio volume ho eseguito, la ricerca del glucosio e della saligenina, cioè dei primi due termini della scissione enzimolitica della salicina.

1) A 5 cc. della soluzione da analizzare vennero aggiunti 5 cc. di H_2O dist.; trattati con alcune goccie di cloruro ferrico al 3%, si ebbe prontamente

la colorazione violetta caratteristica della saligenina; con eccesso di reattivo si ha subito una colorazione permanente violetta-scura. Presenza di saligenina.

La stessa prova eseguita sul *test* fu negativa.

2°) A complessivi 40 cc. della miscela di Bertrand si aggiunsero 10 cc. del liquido da analizzare; si ebbe pronta riduzione con formazione di abbondantissimo precipitato di ossidulo di rame. Presenza di glucosio. Ripetuto il saggio col liquido di controllo non si ebbe riduzione nemmeno usando 20 cc. della soluzione stessa.

La reazione dimostra che il fungillo è capace di scindere enzimaticamente la salicina in saligenina e glucosio. Lo zucchero formatosi serve di nutrimento al fungo mentre la saligenina non viene ulteriormente decomposta. Quando le quantità di saligenina nel liquido sono arrivate ad una dose tossica per l'organismo cessa lo sviluppo di quest'ultimo, mentre prosegue l'opera dell'enzima. Per tale ragione si trova glucosio in quantità notevole nel liquido di coltura; si tratta di zucchero formato idroliticamente dopo che è cessata l'attività vitale del fungo e perciò non consumato.

L'enzima capace di scindere l'arbutina e la salicina in glucosio e nel relativo aglucone è l'*emulsina*. Poichè la scorza e il legno del pioppo contengono piccole quantità di salicina, il fungo può utilizzare quest'ultima come sorgente di carbonio.

Ritengo ancora utile rilevare che ho anche tentato colture su liquido contenente populina (altro fenolglucoside contenuto nella corteccia di pioppo), come unica sorgente di C. Tali colture sono rimaste sterili. Del resto è noto (cfr. G. Klein) che l'emulsina non agisce sulla populina; quest'ultima viene parzialmente idrolizzata solo da un particolare fermento dell'*Aspergillus niger* e da un enzima contenuto nella Takadiastasi giapponese.

Il risultato negativo delle colture su populina dimostrano comunque che l'*emulsina* di *Phoma* è una emulsina p. d. e che il fungillo non elabora alcun particolare enzima capace di scindere idroliticamente la populina.

Chimasi.

Vennero allestiti 3 matracci contenenti 25 cc. di latte scremato e sterilizzato. Il primo di tali matracci (n. 1) venne insemenzato con spore germinanti di *Phoma*, al secondo (n. 2) vennero aggiunti 2 cc. di liquido di coltura filtrato, ottenuto come detto precedentemente, al terzo (n. 3) 2 cc. di liquido di coltura previamente scaldato a bagno maria a 58° C. per 20'. I tre matracci più un quarto contenente 25 cc. di latte scremato puro (controllo) vennero tenuti in termostato a 37° C. Come antisettico usai il toluolo.

Dopo sei giorni nei matracci n. 1 e 2 la coagulazione del latte era completa; il latte era trasformato in un liquido giallo quasi limpido, e al fondo del matraccio si notava un leggero sedimento bianco.

Proteasi in gen.

Ho seguito una semina di *Phoma* su gelatina in tubo normale da coltura. Dopo 2 settimane alla superficie del substrato si era formata una placca brunochiara di micelio e numerosi picnidii di tipo normale, mentre il substrato sotto la placca era liquefatto per uno spessore di 20 mm.; la separazione tra gelatina solida e liquida era nettissima.

Ureasi.

Tre tubi da saggio contenenti 10 cc. di una soluzione di urea al 10% vennero segnati con le lettere *a*, *b*, *c*. Al tubo *a* (controllo) venne aggiunto 1 cc. di H_2O dist.; al tubo *b* un cc. di liquido di coltura (ottenuto come sopra); al tubo *c* 1 cc. di estratto di micelio (ottenuto come sopra).

Per ogni tubo venne eseguita una prova in bianco col reattivo di Nessler, usando 1 cc. delle singole miscele, più 10 cc. di H_2O dist.; le 3 prove in bianco risultarono assolutamente negative. I tubi vennero quindi portati in termostato a 37° C.

Dopo 48 ore si ripetè il saggio col liquido di Nessler e si ottenne: per il tubo *b* un leggero intorbidamento giallo, per il tubo *c* pronto ingiallimento ed intorbidamento che dà luogo più tardi ad un distinto precipitato arancione; per il tubo *a* (controllo) la reazione fu negativa.

Dopo 5 giorni i saggi vennero ripetuti su 3 cc. di liquido addizionato a 17 cc.

di H_2O d'st. Nel tubo *a* (controllo) la reazione si mantenne negativa, nel tubo *b* si ebbe pronto ingiallimento e poi abbondante precipitato; lo stesso si verificò per il tubo *c*, ma la reazione fu un poco più lenta.

Le prove dimostrano che il fungo elabora un enzima (ureasi) capace di trasformare l'urea in carbonato d'ammonio.

Ossidasi.

Per la ricerca delle ossidasi mi sono accontentato semplicemente di saggiare la presenza o meno di enzimi ossidanti, inteso questo termine in senso generico.

Le reazioni usate furono quelle della resina Guajaco e quella del piramidone secondo Rosenthaler (l. c.) che vennero eseguite sull'estratto di micelio e sul liquido di coltura, preparati come detto in principio. Le prove riuscirono completamente negative.

Perossidasi.

Vennero ripetuti i saggi per le ossidasi previa aggiunta alle miscele di acqua ossigenata. Le prove risultarono sempre negative.

Si dovrebbe dunque ammettere che il fungillo non elabori *ossidasi* e *perossidasi* nè come endo- nè come eso-enzima.

Le ricerche degli enzimi sono riassunte nel seguente specchietto:

ENZIMA	PRESENTE COME		METODO DI RICERCA
	endoenzima	esoenzima	
LIPASI	(?)	—	Reazione di Green sul liq. colt.
SACCARASI	+	+	Azione del liq. colt. e dell'estr. mic. sul saccarosio
AMILASI	(?)	+	azione del liq. colt. sull'amido
EMULSINA	(?)	+	colture su terreni contenenti arbutina e salicina come sorgente di C.
PROTEASI in gen.	(?)	+	coltura su gelatina
CHIMASI	+	+	coagulazione del latte in presenza di liq. colt. ed estr. mic.
UREASI	+	+	azione del liq. colt. e dell'estr. mic. sull'urea
OSSIDASI	—	—	reazioni del guajacolo e del piramidone sul liq. colt. e sull'estr. mic.
PEROSSIDASI	—	—	id. id. in presenza di H_2O_2

Riassunto e conclusioni

Riassumendo si può concludere:

1) Sul tronco in via di essiccamento si trovano due organismi fungini: nella porzione imbrunita di recente, che corrisponde alla zona avanzante della infezione, si trovano solo fruttificazioni (peritecii) riferibili ad uno sferiaceo identificato con *Physalospora populina* Maubl.; nella porzione già disseccata e morta della corteccia le fruttificazioni picnidiche di uno *Sferopsidale* identificato con una *Phoma* pure descritta dal Maublanc.

2) Il micelio della *Physalospora* invade solo la corteccia; quello di *Phoma* si trova tanto nella corteccia morta come nel sottostante legno in via di deperimento o già secco.

3) Le colture di *Physalospora* (da spore in natura) su decotto di corteccia hanno riprodotto solo la forma ascofora; i trapianti di *Phoma* da natura su agar di corteccia, su agar di legno e su liquido di Richard, hanno riprodotto solo la forma picnidica; i trapianti di legno morto e invaso da micelio su agar di corteccia hanno ugualmente riprodotto solo la forma picnidica. Le prove di colture non hanno quindi chiarito la relazione metagenetica tra *Physalospora* e *Phoma* prospettata dal Maublanc.

4) L'esito negativo tanto per *Phoma* quanto per *Physalospora* della inoculazione artificiale su *pioppo canadese* sarebbero contrarie ad una ipotesi parassitica per ambedue gli organismi.

5) Le ricerche sui fermenti elaborati da *Phoma* dimostrano che questo organismo dispone di numerosi enzimi dei principali gruppi e probabilmente di altri specialmente tra quelli idrolizzanti che non vennero ricercati.

Benchè le prove colturali siano sfavorevoli alla tesi, ritengo che il Maublanc abbia ragione nel ritenere come metagenetiche le due forme *Phoma* e *Physalospora*, perchè, in attesa di una riprova sperimentale, mi sembra abbastanza probatoria la coesistenza dei due fungilli che io ho potuto verificare come regola costante in tutti i casi da me osservati sia sul *pioppo canadese* che sul *p. caroliniano*. Anche la perfetta identità tra le forme vegetative delle due specie sia in natura che in coltura potrebbe essere l'indizio di una relazione metagenetica, a favore della quale sta ancora il fatto che per molte specie di *Physalospora* ben conosciute lo stadio imperfetto è rappresentato da specie del genere *Phoma*.

Ritengo pure che il risultato negativo dell'inoculazione artificiale non escluda a priori la tesi della natura parassitica delle due specie. Già il fatto di aver riscontrato le due forme su piante in perfette condizioni ed allevate in condizioni particolarmente favorevoli d'ambiente dove sono soggette ai più raffinati accorgimenti colturali, ed il fatto che la malattia si era manifestata col carattere di una « *moria* » cioè di una infezione a rapida diffusione, sono argomenti che difficilmente si accordano col concetto di saprofitismo.

In principio di questa primavera, allorchè la moria cominciò a svilupparsi intensamente nei vivai di Villafranca, la Direzione dell'Istituzione decise la estirpazione e la distruzione di tutti i soggetti colpiti onde evitare il diffondersi del male: questo mezzo draconiano si dimostrò della massima efficacia: infatti la moria si arrestò quasi di colpo e da allora non è tornata a manifestarsi. Mi sembra che questo possa valere come una riprova indiretta della natura parassitaria della « moria ».

Inoltre è opportuno ricordare che il primo sintomo del male è dato dall'imbrunimento della corteccia che coincide collo espandersi del micelio della *Physalospora*; oltre a questa zona imbrunita che dunque corrisponde all'orlo avanzante dell'infezione, i tessuti corticali da me osservati risultarono sempre integri e normali; e del resto il fallimento delle mie prove di inoculazione possono dipendere da cause diverse benchè ignote, prove che del resto sono riuscite al Voglino (l. c.) pure incline ad una tesi saprofitica; il quale ammette di essere riuscito ad ottenere abbondante sviluppo di micelio nei tessuti corticali.

Continuerò le ricerche estendendole anche ad altre specie e razze di pioppo.

Dott. MENELAO SULIOTIS.

BIBLIOGRAFIA

1) MAUBLANC M. A. Bull. Soc. Myc. de France. XXIII (1907). p. 141. — 2) VOGLINO P.: I nemici del Pioppo canadese di Santena. Torino 1910. p. 33-34. — 3) PETRI L.: Boll. R. Staz. Pat. Veg. Roma. X (1930) p. 94. — 4) GREEN R.: Die Enzyme. Berlin, 1901. — 5) ROSENTHALER L.: Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung. III Aufl. Berlin. 1928. — 6) SERVAZZI O.: Nuovo Giorn. Bot. It., n. s. XLIII (1936). p. 259. — 7) KLEIN G.: Handbuch der Pflanzenanalyse. III/2. Wien, 1932. p. 817.

Sulla biologia di PESTALOTIA MACROTRICHA Kleb.

Nel gennaio del 1935 trovai su *Kalmia latifolia* L. (nuova matrice) una *Pestalotia* che identificai — ad onta di qualche scostamento dal tipo con *P. macrotricha* Kleb. (1), specie frequente sui rododendri ornamentali.

P. macrotricha Kleb. è dal Guba (2) considerata come specie strettamente legata al gen. *Rhododendron* come matrice; anzi secondo l'Autore americano *P. macrotricha* e la vicina *P. rhododendri* (D. Sacc.) Guba (= *P. versicolor* Speg. var. *rhododendri* Sacc.) sarebbero le sole specie del genere esistenti sui rododendri, e per conseguenza tutte le specie in passato descritte su tale matrice (p. es., *P. Guepini* Desm.) dovrebbero essere riferite ad una delle due specie anzidette. Assegnando la forma trovata sulla nuova matrice a *P. ma*

crotricha ho interpretato la limitazione del Guba in senso lato, cioè comprendente tutta la tribù *Rhododendreae* delle *Ericaceae*, a cui appunto appartiene il gen. *Kalmia.* Osservavo inoltre che le differenze morfologiche riscontrate — specialmente nei conidi — tra la forma tipica vivente su *Rhododendron* e quella vivente su *Kalmia*, si potevano forse interpretare come l'espressione di un diverso grado di adattamento al substrato; nel quale caso le anormalità riscontrate per la forma isolata da *Kalmia* potrebbero essere i segni di un adattamento incompleto.

E' noto che le opinione sulla natura patogena delle *Pestalotia* dei rododendri sono tuttora controverse, benchè non siano mancate ricerche in proposito. Tengwall (3) e Schmitz (4), usando per le inoculazioni colture pure di *Pestalotia* isolate da rododendri, ottennero risultati positivi; ma lo stesso Schmitz avverte che, trovandosi spesso i funghi su foglie infestate da un piccolo afide, assai comune in primavera, le infezioni da *Pestalotia* possono essere di natura secondaria. La Doyer (5), studiando diverse specie di *Pestalotia* in rapporto alla loro patogenicità sui rododendri, ottenne sempre risultati negativi quando le inoculazioni erano tentate senza previa lesione degli organi; onde essa nega natura parassitica alle *Pestalotia* dei rododendri. Secondo White (6) *P. macrotricha* e *P. rhododendri* sono parassiti di debolezza (*weak parasites*) poichè le infezioni artificiali ebbero risultato negativo se eseguite su foglie illese o attraverso gli stomi, mentre le infezioni positive vennero conseguite solo per mezzo di abrasioni, punture e scottature. Egli perciò ritiene ottime vie di penetrazione per questi organismi i traumi come screpolature da gelo, scottature solari (*sunscald*), punture di tripidi, cimici (*Stephanitis rhododendri* Harw.), di insetti succhiatori delle foglie, ferite da agenti meccanici, ecc., Kotthof (7) trovò che *P. macrotricha* era incapace di infettare *R. indicum* (*Azalea indica*); ritiene tuttavia trattarsi di un parassita di debolezza capace di infettare i rododendri quando questi siano in condizioni particolari di deperimento. Infine Howarth e Chippindale (8) osservarono che *P. macrotricha*, penetrando attraverso una ferita, poteva necrosare i tessuti limitrofi ma non estendere l'infezione ai tessuti sani; anche questi Autori ritengono perciò il fungo capace di infettare solo tessuti in via di disseccamento per altre cause, ma assolutamente innocuo di fronte a tessuti sani.

In conclusione dunque si tende ad ammettere che le *Pestalotia* dei rododendri non siano parassiti propriamente detti, ma piuttosto semplici parassiti di debolezza capaci di accellerare o favorire il decorso di deperimenti già in atto però manifestatisi per altre cause.

In Piemonte io ho trovato tanto *P. rhododendri* (D. Sacc.) Guba quanto *P. macrotricha* Kleb. su diversi rododendri (*R. maximum* L., *R. Catawbiense* Hoffmgg., *R. japonicum* Chiov. e vari ibridi ort. come *R. azaleoides* Des., *R. hybridum* K. G. ecc.) coltivati a scopo ornamentale (9); ma mentre la prima specie può dirsi rara, è invece comunissima l'altra. In provincia di Torino *P. macrotricha* è diffusissima tanto che in primavera ben pochi esemplari di rododendro ornamentale possono dirsi completamente immuni dal caratteristico seccume fogliare; in alcuni casi, fortunatamente rari, si può arrivare al disseccamento e poi alla defogliazione totale (Rivoli, marzo 1936). Ma anche in altre provincie Piemontesi i rododendri vanno soggetti al seccume da *Pestalotia*: piante fortemente colpite ho riscontrato nelle primavere degli anni 1933-1936 sulle rive del Lago Maggiore (Pallanza, Intra, Stresa), a Biella, a Gattinara, a Rivarolo, a Saluzzo, a Cuneo.

Data questa, si può dire, generale diffusione delle *Pestalotia* sui rododendri, ho creduto utile iniziare lo studio della biologia di *P. macrotricha* e riprendere la questione della sua patogenicità mediante prove di inoculazione artificiale. Con tali ricerche mi proponevo in primo luogo di studiare la patogenicità del fungo rispetto alle due matrici *Rhododendron* e *Kalmia*, in secondo luogo di dare una riprova dell'identità della forma atipica isolata da Kalmia con *P. macrotricha* Kleb., in terzo luogo di dimostrare non essere *P. macrotricha* esclusiva del gen. *Rhododendron* e la sua adattabilità anche ad altre specie della tribù delle *Rhododendreae*.

Colture di P. macrotricha isolata da Kalmia

Conidi di *Pestalotia* isolati da infezioni naturali di *Kalmia latifolia* vennero seminati 2-II-1935 su liquido di Raulin 25 cc. del liq. in matracci Erlenmeyer da 100 cc., temp. del termostato 18° C. La germinazione fu pronta e dopo soli 3 giorni tutta la superficie libera del substrato era uniformemente ricoperta da

un feltro niveo caratteristico per le colture pure tipiche della specie (5-II). Il micelio continuò a svilupparsi rigogliosamente ed al 20° giorno (25-II) esso formava una placca consistente alta circa 2 mm. costituita da 3 zone: una superficiale (micelio aereo) nivea feltrosa, una zona mediana scura ed un zona inferiore, a contatto col liquido nutritivo, di consistenza quasi cartilaginosa di colore arancione; a quest'ultima aderiva un sottile strato ialino di consistenza mucoso-gelatinosa. Nel medesimo tempo si contava una ventina di acervoli assai evidenti dai quali uscivano abbondanti masse di conidii in cirri lunghi 3-10 mm. Il liquido nutritivo era colorato intensamente in giallo-arancione.

Osservata al microscopio la placca micelica risultava così costituita: 1°) Strato superficiale feltroso-fioccoso niveo, alto 600-750 micr., formato da un intreccio lasso di ife ialine regolarmente cilindriche con diam. medio di 2-3 micr., non molto ramose, poco settate, lisce o parcamente guttulate. Da questo intreccio si elevavano verso l'esterno ife diritte più sottili formanti la parte feltrosa superficiale della placca. — 2°) Strato mediano alto 250-300 micr., formato da ife cilindriche molto settate e ramificate, tortuose ed irregolari, di colore giallastro-sporco più o meno scuro e talmente intrecciate ed addensate da formare una specie di plectenchima. Queste ife pesentavano un diam. variabile da 2 a 6 micr. ed erano ricchissime di guttulazioni fortemente rinfrangenti. Per trattamento con il fissativo di Flemming, o con altro liquido contenente acido osmico, le guttulazioni precipitavano in massерelle giallo-brune; per trattamento con blu BZL (*) le goccie rinfrangenti si coloravano intensamente in blu, mentre le ife restavano incolori; queste reazioni dimostrano che si tratta evidentemente di accumuli di sostanze grasse di natura lipoide. La colorazione permetteva di osservare che in certe ife questi accumuli riempiono tutto il lume per lunghi tratti; in altre si addensano specialmente nei segmenti d'onde si dipartono le ramificazioni; infine in alcuni casi particolari si notavano rigonfiamenti subglobosi nel percorso delle ife, o addirittura appendici globose portate da brevi ife laterali, completamente riempiti dalla sostanza grassa. Lo strato mediano era nettamente separato da quello superficiale secondo una linea che sembrava corrispondere al pelo del liquido nutritivo, poichè la zona mediana apparteneva già alla porzione sommersa della placca stessa. Tra l'intreccio lasso costituente il micelio aereo ed il plectenchima formante la zona mediana si distingueva un sottile strato di passaggio formato da ife ialine o subialine irregolari, divise da numerosi setti in articoli brevi e ramificati di aspetto coralloide; lo strato coralloide era ricco di guttulazioni grasse e così pure la parte più profonda del micelio aereo ad esso contiguo. Pare che la sostanza grassa esca facilmente dalle ife poichè essa riempiva in forma di goccioline (che potevano arrivare ad un diam. di 6-7 micr.), anche le maglie del plectenchima. Le appendici globose contenenti la sostanza grassa, cui ho accennato più sopra, raggiungevano un diam. sino a 6-7 micr. ed erano più frequenti nella parte più profonda della zona mediana dove questa insensibilmente passa nello strato inferiore. — 3°) Strato inferiore, di consistenza quasi cartilaginosa, formato da ife cilindriche abbastanza regolari ma assai ramificate costituenti una specie di plectenchima un po' più lasso del precedente; anche in questo strato si incontravano numerosi corpi sferici ripieni di grasso; goccioline di grasso si trovavano pure nelle ife cilindriche. Questo strato aveva uno spessore di circa 500 micr.; in esso le ife erano tenute strettamente aderenti da una sostanza di tipo mucilaginoso insolubile in acqua ma molto densa, ciò che conferiva consistenza quasi cartilaginea alla parte inferiore della placca. Nella massa mucilaginosa ad essa aderente si notavano numerose ife cilindriche ialine grosse (diam. fino a 6 micr.), settate e ramose, con guttulazioni lipoidi molto abbondanti e grosse. Queste ife sono le più vecchie della cultura come si può arguire osservando che esse prendono origine da vecchi conidii germinati ed ormai degenerati.

La susseguenza degli strati si mette bene in evidenza in sezioni colorate col blu dianile per un minuto dopo rapido passaggio in alcool.

(*) La soluzione colorante, che sostituisce molto bene i soliti coloranti per i grassi (Sudan III, Scharlachrot, blu di indofenolo, ecc.) è stata preparata secondo le indicazioni di Lison (10), saturando a caldo il colorante (blu BZL Ciba) in alcool a 50° e filtrando prima dell'uso. Le sezioni, prese dall'acqua, vengono lasciate nel colorante 15-30 minuti in bottiglia chiusa e quindi risciacquate con acqua dist. Questa colorazione che è stata proposta per tessuti animali (specialmente nell'istologia del sistema nervoso per la grande affinità del colorante verso la melanina ed i suoi prodotti di degradazione) mi ha dato risultati eccellenti (come del resto risulta dalla microfotografia fig. 10) sia per l'affinità del colorante stesso verso la sostanza grassa in confronto col Sudan III, sia per il maggiore risalto della colorazione.

I corpi fruttiferi sviluppatisi in questa coltura erano tipici acervoli con strato conidiogeno basale. La conidiogenesi aveva luogo secondo il tipo normale ed i *conidii erano in tutti i caratteri identici a quelli delle infezioni naturali su Kalmia.*

Tali conidii — che d'ora innanzi chiamerò « *atipici* » — si presentano come segue:

« Conidii fusoideo-eretti, raramente un poco gibbosi, 5 cellulari (23,5) - 25-26-27- (29) × 6-6,5-7-8 mcr.; con le tre cellule mediane olivaceo-fosche, (15)-16,5-17-(18) micr., di esse normalmente la mediana, qualche volta le due superiori più scure, non o assai leggermente ristrette ai setti; cellula apicale ialina nettamente conico-troncata, 3,5-4-5 micr. con normalmente 2 o 3 setole ialine, abbastanza grosse, rigidule o più comunemente flessuose ma non reflesse, spesso ad andamento tortuoso, raramente ramificate, non caduche, lunghe (17)-20-24-27-(?) micr.; cellula basale ialina conico-attenuata, 3,5-4-6 micr., con pedicello ialino sottile (7)-9-10-12 micr. » (*Forma atipica* o delle infezioni naturali su *Kalmia*).

Questi conidii seminati su liq. di Raulin agarizzato (al 20 per mille di agar) diedero luogo a colture molto rigogliose (temp. del termostato 18° C.) e lo sviluppo fu rapido: dopo 3 giorni (7/III) il feltro niveo copriva già tutta la superfice del substrato e dopo 20 giorni (28/III) si constatò la deiscenza di alcuni acervoli in cirri lunghi 3 mm. Il numero dei corpi fruttiferi aumentò rapidamente, mentre contemporaneamente si addensava e si ispessiva la placca micelica; ad un mese dalla semina (5/IV) contai oltre un centinaio di acervoli deiscenti. La deiscenza avvenne in modo caratteristico per espulsione di grosse goccie nere lucenti dagli acervoli largamente aperti; continuando la espulsione dei conidii, in breve tempo quasi tutta la superfice della placca si coprì di una lacca nera che dopo molti mesi, per disseccamento della coltura, si rapprese in una crosta nera opaca simile alle ben note croste delle « fumaggini ». Ho potuto in seguito constatare che tale deiscenza in grosse goccie nere è caratteristica per le colture di *P. macrotricha* su terreni solidi.

Microscopicamente la coltura su Raulin-agar era identica alla coltura su liquido di Raulin; anche i corpi fruttiferi erano tipici acervoli ed i conidii pertinenti alla forma atipica.

Con conidii di questa coltura eseguii (2/IV) una nuova semina su malio-agar, terreno ottimo per *P. macrotricha* sotto ogni aspetto. Lo sviluppo fu rapidissimo: dopo tre giorni (5/IV) il feltro niveo copriva tutta la superfice libera del substrato; al 6° giorno (8/IV) comparvero numerosi acervoli specialmente nella parte inferiore della placca, tanto che il substrato in molti punti appariva annerito a causa della deiscenza. A 20 giorni dalla semina (22/IV) sulla superfice del feltro spiccavano più di 200 acervoli deiscenti in grosse goccie nero-lacca, che, aumentando di numero e volume, confluirono ricoprendo il feltro uniformemente con una patina di aspetto catramoso, come ho già descritto per la coltura su Raulin-agar.

Questa coltura si presentava, per quanto riguarda il micelio ed i corpi fruttiferi, macro- e microscopicamente simile alle precedenti colture, invece i conidii erano in tutti i caratteri conformi al tipo come si riscontra nelle infezioni naturali di *P. macrotricha* su *Rhododendron*, secondo le diagnosi dettate dal Klebahn (11) e dal Guba (l. c.).

Tali conidii — che d'ora in poi chiamerò « *tipici* » — si presentano come segue:

« Conidii allungato-fusoidei, qualche volta curvati, raramente irregolari, 5 cellulari, 23-25-27-29 × 6-7,5-8 micr.; con le 3 cellule mediane di colore olivaceo-scuro uniforme, 17-18,5 micr., qualche volta leggermente ristrette ai setti, di solito guttulate, le 2 superiori eventualmente un poco più scure; cellula apicale ialina subconica o conico-troncata o turbinata, 2,5-3,5 micr. con normalmente 3, non raramente 2 o 4 setole ialine, abbastanza grosse divergenti, lunghe 25-28-35-40 micr. non caduche; cellula basale ialina, conica, 3,5-(7) micr., pedicello 9-0-13-16 micr. » (*Forma « tipica »* o delle inf. nat. su *Rhododendron*).

Come si vede tra i conidii tipici ed atipici le differenze più rilevanti si riscontrano nel numero e nella lunghezza delle setole; inoltre la forma su *Kalmia* ha conidii tipicamente « versicolori ». Del resto una certa variabilità dei conidii sembra in genere potersi attribuire alle *Pestalotia*, ed a tale proposito ricordo i lavori di Lagerberg (12), il quale in colture di *P. Hartigi* ottenne conidii simili a quelli di *Hendersonia* ed altri simili a *Monochaetia* e *Coryneum*. Massee (13) in colture di *P. Guepini* ottenne conidii molto aberranti che per l'assenza totale di setole, erano identici alle picnospore di *Hendersonia theicola*

Cke.; questi ultimi riportati su decotto di prugne produssero solo conidii setolati tipici di *Pestalotia*.

Il fatto che la forma atipica isolata dalle infezioni naturali di *Kalmia* riproduca, in coltura, la forma tipica che si riscontra nelle infezioni naturali di *Rhododendron* dimostra l'identità della prima forma con *P. macrotricha* Kleb.: identità che risulta pure dai confronti che ho voluto eseguire con numeroso materiale di *Rhododendron* infetto da *P. macrotricha*, proveniente da diverse località del Piemonte (Torino, Pinerolo, Biella, Ivrea, Cuneo, Acqui).

Ho anche eseguito colture con conidii di *P. macrotricha* isolata da infezioni naturali su *Rhododendron* (*R. maximum* L.), usando la stessa successione di terreni nutritivi come per la forma atipica, cioè liq. di Raulin, Raulin-agar, malto-agar. Su tutti e tre i substrati ho sempre ottenuto solo la forma atipica.

Proseguendo nello studio biologico di *P. macrotricha*, ho usato terreni molto diversi per natura e composizione come patate, infuso di prugne-agar, farina di frumento-agar, brodo di fagioli-agar, brodo nutritivo peptonizzato, brodo nutritivo - peptonizzato e agar, malto-agar, agar di Crabill, agar di Leonian-Bonar, agar di Piefer-Humphrey-Acree, liq. di Tubeuf-agar, agar di Clausen (con asparagina), liq. di Czapek, liq. di Richard. Quest'ultimo, tra i mezzi liquidi, si è dimostrato particolarmente favorevole allo sviluppo di *P. macroticha* per cui è stato scelto come terreno tipo. Riferirò altrove sul comportamento del fungo rispetto ai vari terreni; in generale però esso — pur presentando secondo il terreno differenze di sviluppo e variazioni morfologiche talora assai notevoli — si adatta abbastanza facilmente ai substrati più varii. Le differenze morfologiche riguardano principalmente i conidii: le loro dimensioni, la lunghezza delle setole, il colore della porzione dei tre loculi mediani. Ho anche iniziato lo studio dei fattori che possono influire su tale variabilità ed in primo luogo l'azione dei singoli elementi nutritivi rappresentati nel substrato. A tale scopo, usando come terreno tipo il liq. di Richard, ho fatto una serie di colture su terreni nei quali di volta in volta variavo, in più o in meno, il tenore di un solo elemento nutritivo, fermo restando il tenore degli altri. In linea di massima, ed a prescindere da alcune « irregolarità » riscontrate nei terreni a concentrazioni varie di N, *è risultato da queste ricerche che i conidii sono tanto più grandi, tanto più scuri ed hanno setole tanto più lunghe quanto più il substrato è povero di elementi nutritivi*. E' probabile che questo effetto non dipenda tanto dalla costituzione chimica del substrato quanto dal *ph* del mezzo stesso, poichè la concentrazione idrogenionica evidentemente varia col variare della composizione quantitativa ed anche in seguito all'azione stessa del microrganismo; vi possono inoltre influire altri fattori chimico-fisici come p. es. la diversa pressione osmotica.

Per quanto poi riguarda i corpi fruttiferi ho osservato che oltrepassato un certo minimo di concentrazione dei singoli elementi nutritivi (e precisamente 0,4% per il saccarosio, 0,003% per l'N, 0,3% per il P) non si sviluppano più acervoli ma forme chiuse riferibili a pseudo-picnidii ed a picnidii propriamente detti in tutto identici a quelli degli *Sferopsidali*. Fa eccezione solo il Mg, poichè anche in assenza di questo elemento si ottengono sempre e solo acervoli. Questi fatti mentre da un lato confermano le osservazioni del Leininger (14) il quale in colture di *P. palmarum* riuscì ad ottenere lo sviluppo di picnidii impoverendo il substrato di sostanze nutritive, dall'altro lato dimostrano l'indifferenza anche di *P. macrotricha* rispetto al Mg, indifferenza che diversi autori hanno già messo in rilievo per altri funghi (*).

Aggiungo infine che ho anche seminato conidii della forma tipica isolata da infezione naturale (*Rhododendron maximum*) su terreni poveri in elementi nutritivi, ottenendo sempre — accanto ad uno sviluppo normale dell'apparato micelico — corpi fruttiferi anormali (picnidii o pseudopicnidii) e conidii aberranti con loculi mediani più scuri e setole più lunghe del normale.

Prove di inoculazione artificiale

Per le inoculazioni ho usato conidii della coltura su malto-agar (colt. del 2-22-IV-1935) cioè conidii *tipici* però ottenuti dopo ripetuti passaggi su terreni diversi della forma atipica isolata da *Kalmia*.

(*) Ho riferito più ampiamente intorno a queste ricerche in una Comunicazione preliminare fatta nella seduta del 22-XI-36 della Sez. Piemontese della S. B. I. e che verrà pubblicata nel Bollettino della Società stessa (Nuovo Giornale Botanico Italiano 1937).

Le inoculazioni vennero eseguite per contatto, per lesione, per scottatura e precisamente:

I) Nelle prove di infezione per contatto deponevo, sulla lamina fogliare integra — previamente lavata con una soluz. di sublimato al 10%, poi con acqua dist. sterile e quindi asciugata con pannolino sterile — 2-3 goccie d'acqua contenenti in sospensione conidii maturi. Le inoculazioni vennero effettuate separatamente sulle due pagine superiore ed inferiore di foglie di *Kalmia latifolia* (prove dal n. 1 al n. 4) e di *Rhododendron maximum* (prove dal n. 5 al n. 8) giovani ed adulte.

II) Nelle infezioni per lesione asportavo asetticamente una piccola porzione di cuticola e sulla minuscola ferita deponevo la sospensione di conidii. Eseguii le prove separatamente sulle due pagine superiore ed inferiore di foglie di *Kalmia latifolia* giovani ed adulte (prove dal n. 9 al n. 12) e sulla pagina superiore di foglie di *Rhododendron maximum* giovani ed adulte (prove dal n. 13 al n. 14).

III) Nelle infezioni per scottatura facevo cadere — su due punti integri della lamina — due goccie d'acqua bollente e sulla zona così scottata deponevo la sospensione di conidii. Tali prove vennero eseguite solo sulle pagine superiore ed inferiore, separatamente di foglie di *Kalmia latifolia* giovani ed adulte (prove n. 15 e 16).

Per foglie giovani (tanto di *Kalmia* quanto di *Rhododendron*, avendo le due specie foglie assai simili per dimensione e struttura) intendo foglie con superficie non superiore a 12 cmq.; per foglie adulte quelle aventi una superficie non inferiore a 25 cmq. Le foglie adulte di ambedue le specie sono coriaceo-membranose, dure, verdi scure, con un sottilissimo rivestimento ceroso che le rende lucenti specialmente sulla pagina superiore. L'epidermide è formata da cellule con pareti fortemente cuticolarizzate verso l'esterno; il parenchima assimilatore consta di non meno di 4 strati sovrapposti di cellule a palizzata ricchissime di clorofilla; il parenchima lacunoso ha uno spessore quasi uguale a quello assimilatore ed è formato da cellule abbastanza grandi, più o meno irregolari e povere di clorofilla ed ha lacune spaziose. L'epidermide inferiore è alquanto più sottile di quello superiore. Le foglie giovani di ambedue le specie, sono tenere, quasi molli, di color verde pallido; in esse il mesofillo consta di due strati di cellule a palizzata con clorofilla non molto abbondante e di un aerenchima anche più sottile ricco di grandi lacune.

Le foglie hanno reagito in modo diverso secondo il punto in cui avvenne l'inoculazione.

I. - Prove d'inf. per contatto (29-V-1935).

N. 1: foglia giovane di *Kalmia*; due inoculazioni, verso la metà e verso l'apice della foglia sulla pag. sup. La foglia si mantenne sana per molto tempo ma verso la metà di agosto si manifestò all'apice un annerimento (probab. per colpo di sole) che si estese rapidamente a tutto il lembo (18-VIII), sul quale comparvero ben presto estesi feltri olivaceo-foschi di un'*Alternaria* (20-VIII).

Solo dopo un'altra diecina di giorni (30-VIII) comparvero a circa metà della foglia stessa, sulla pag. sup., alcuni corpi fruttiferi che erano tipici *picnidii* identici a quelli che descrivo nella prova seguente.

I conidii erano tipici ed atipici mescolati.

In questo caso evidentemente le infezioni di *Alternaria* e di *Pestalotia* erano di natura secondaria.

N. 2: foglia giovane di *Kalmia*; due inoculazioni, verso la metà della foglia e alla base della costola mediana sulla pag. inf. Il 18-VI dalla base della foglia cominciò a dipartirsi un annerimento nettamente delimitato che rapidamente si diffuse a tutta la lamina. Il 29-VI erano anneriti 2/3 della lamina; la macchia era sempre nettamente delimitata e disseccò. Il 3-VII tutta la foglia era nera e secca e sulla pag. sup. comparvero numerosi corpi fruttiferi di *Pestalotia*.

Tali corpi fruttiferi erano globosi o subglobosi o anche piriformi, con diametro di 100-120 micr. (massimo 120 × 150) e costituiti da un peridio propriamente detto di cellule poliedriche quasi isodiametriche (6,5-7 micr. diam.) formanti un plectenchima di colore olivaceo-scuro. Il peridio si prolungava in alto in una sorta di papilla alta 15-20 micr. che al momento della deiscenza si rompeva sul vertice dando luogo ad una specie di ostiolo largo circa 20-30 micr. Lo strato conidiogeno tappezzava tutta la cavità e l'emissione dei conidii avveniva in cirri lunghi fino a un centimetro.

Questi corpi che, secondo il concetto di Klebahn (l. c.) e di Leininger (l. c.), possiamo chiamare — a causa specialmente della loro origine da formazioni

solide pseudoparenchimatiche di natura meristogena — col nome di *picnidii*, ricordando in tutto le omonime formazioni degli *Sferopsidali* e la loro analogia con quest'ultime è messa ancora in maggior evidenza dal fatto che essi sono nettamente delimitati tutto intorno e completamente isolati dal tessuto ospite col quale si mantengono in rapporto solo mediante grosse ife nutritive di colore olivaceo-fosco, ramose e settate. I picnidii delle infezioni artificiali erano per forma, dimensioni e struttura identici con le analoghe fruttificazioni riscontrate nelle colture di *P. macrotricha* su terreni poveri di elementi nutritivi.

I *conidii* prodotti in questi corpi appartenevano per metà circa alla forma tipica per metà alla forma atipica; inoltre numerose erano le forme aberranti specialmente per l'origine e la ramificazione delle setole.

N. 3: foglia adulta di *Kalmia*; due inoculazioni, verso la metà della foglia e alla base della costola mediana sulla pag. sup. La foglia si mantenne sana per 15 giorni dopo di che (12-VI) apparve alla base della foglia stessa una macchia di color marrone che si estese lungo la nervatura principale e poi lungo le nervature secondarie occupando via via le aree intercostali, in modo che l'imbrunimento presentava nei primi tempi la figura di un triangolo con il vertice verso l'apice fogliare e la cui base si allargava sempre più via via che l'alterazione procedeva. Il progresso da principio fu lento poi sempre più rapido; 5 giorni dopo la comparsa dell'imbrunimento (17-VI) la macchia occupava sì e no il terzo inferiore della superficie fogliare, ma dopo appena altri 5 giorni (22-VI) occupava già i 4/5 della lamina. La macchia presentava un contorno irregolare ed indefinito ed inoltre — e ciò è una caratteristica assolutamente costante in tutte le infezioni artificiali di foglie adulte sia di *Kalmia* sia di *Rhododendron* — l'imbrunimento era preceduto sin dal primo giorno da una vistosissima fascia giallo-oro, larga circa 5 mm., che formava come un alone a contorno indefinito intorno alla macchia bruna; questo alone giallo-oro rappresentava dunque l'orlo avanzante dell'infezione. Verso il 20° giorno (17-VI) comparvero i primi corpi fruttiferi che presto aumentarono di numero fino a contarne diverse centinaia sparsi senza ordine quando la foglia era completamente imbrunita ed essiccata (25-VI). I corpi fruttiferi erano più numerosi sulla pag. sup. che sull'inf. e la deiscenza avvenne in masserelle nere o brevi cirri (lunghi fino a 1-1,5 cm.). Nei tessuti delle aree alterate si riscontrava facilmente la presenza del micelio ialino caratteristico di *P. macrotricha* che si ritrovava pure nella zona color giallo-oro.

I corpi fruttiferi erano tipici acervoli come si riscontrano nelle infezioni naturali; essi vi produssero conidii tipici mescolati a gran numero di conidii atipici (circa il 50%); mancavano forme aberranti.

La goccia deposta a metà lamina (su area intercostale) non diede luogo ad infezione.

N. 4: foglia adulta di *Kalmia*; due inoculazioni, verso la metà della foglia e alla base della costola mediana sulla pag. inf. Solo quest'ultima diede luogo all'infezione con i caratteri descritti per la prova n. 3, salvo una anticipazione di 4 giorni nella comparsa dell'imbrunimento per cui il disseccamento della foglia fu pure più rapido. Anche qui l'imbrunimento era preceduto dalla fascia giallo-oro. I corpi fruttiferi (alcune centinaia a disseccamento completo della foglia) erano tipici acervoli; i conidii tipici ed atipici.

La goccia deposta a metà lamina (su area intercostale) non diede luogo ad infezione.

N. 5: foglia giovane di *Rhododendron*; due inoculazioni, verso l'apice e alla base della foglia (vicino alla nervatura principale) sulla pag. inf. Il 18-VI la foglia cominciò ad annerire alla base; dopo 4 giorni (22-VI) tutta la foglia era nera e secca. Come nella prova n. 1 mancava l'alone giallo.

La goccia deposta a metà lamina (su area intercostale) non diede luogo ad infezione.

Sulla lamina disseccata comparvero ben presto (20-VI) numerosi corpi fruttiferi; a disseccamento totale questi erano circa 200 sulla pagina sup. mentre sulla pag. inf. se ne contò solo una ventina. La maggioranza di tali corpi fruttiferi erano picnidii (come nella prova n. 2); però si trovarono pure, ma in numero esiguo, corpi fruttiferi che tenevano dei caratteri di acervoli. Tali corpi (che chiamerò *pseudopicnidii*) si distinguevano dagli acervoli p. d. per la presenza di uno strato coprente (pseudoperidio) di cellule subialine o pallidamente fuligginose, bene sviluppato specialmente nei corpi immaturi; al momento della deiscenza questo strato si lacera e viene espulso assieme ai conidii. Nei pseudopicnidii lo strato proligero si allunga anche sulle pareti laterali della cavità, ma la conidiogenesi ha luogo in massima parte dalla porzione basale dello strato conidiogeno stesso.

I conidii appartenevano esclusivamente alla forma tipica.

N. 6: foglia giovane di *Rhododendron*; due inoculazioni alla base e a metà circa della foglia sulla pag. inf. Tutto procedè come nella prova n. 5 salvo un ritardo di 2 giorni nella comparsa della macchia nera. Acervoli e pseudopicnidii (scarsissimi); conidii tipici.

N. 7: foglia adulta di *Rhododendron*; due inoculazioni, alla base e verso l'apice della foglia sulla pag. sup. Al 10-VI si ebbe la comparsa di una macchia bruna preceduta da alone giallo-oro come nella prova n. 3 (foglia adulta di *Kalmia*); il 20-VI tutta la foglia era bruna e secca e su essa si notavano numerosi corpi fruttiferi. Si tratta di tipici acervoli, larghi alla base fino a 350 micr. e alti 100-150 micr., largamente aperti a maturità e crateriformi, come nelle infezioni naturali di *P. macrotricha* su *Rhododendron* (matrice tipica). Conidii esclusivamente tipici.

N. 8: foglia adulta di *Rhododendron*; due inoculazioni alla base e verso l'apice della foglia sulla pag. inf. L'imbrunimento alla base della foglia comparve il 15-VI; otto giorni dopo (24-VI) la foglia era completamente secca. Del resto tutto procedè come nella prova n. 7; molto evidente anche qui il caratteristico bordo giallo-oro. Acervoli tipici; conidii tipici e rari conidii atipici.

II. - Prove d'inf. per lesione (29-V).

N. 9: foglia giovane di *Kalmia*; due inoculazioni verso la metà e verso l'apice della foglia sulla pag. sup. Non si ebbe infezione (24-VII).

N. 10: foglia giovane di *Kalmia*; tre inoculazioni sulla pag. inf. in 3 punti diversi ma lontani dalla base fogliare e su aree intercostali.

L'infezione ebbe luogo in tutti e 3 i punti, ma restò limitata. Infatti già dopo 6 giorni si erano formate intorno ai punti d'inoculo (3-VI) delle macchiette di seccherecio nere circolari e nettamente delimitate, larghe circa 3 mm., che spiccavano anche sulla pag. sup. Mancava l'orlo giallo. Le macchie non si estesero oltre e la foglia si mantenne in queste condizioni per altri due mesi ancora. Sulle macchiette si svilupparono però alcuni corpi fruttiferi (15-VII) che erano picnidii del tipo descritto alla prova n. 2. In questi picnidii ho potuto facilmente constatare che il peridio era costituito da un solo strato di cellule plectenchimatiche; i conidii erano in maggioranza atipici, però vi si trovavano frammischiati anche numerosi conidii tipici.

N. 11: foglia adulta di *Kalmia*; due inoculazioni, verso la metà e verso l'apice della foglia sulla pag. sup. Non si ebbe infezione diffusa nemmeno dopo 2 mesi (30-VII) però le inoculazioni diedero luogo a piccole macchiette brune, che si formarono assai presto (3-VI) ma che non si estesero oltre i 3 mm. di diametro. Su esse apparvero (8-VI) alcuni acervoli tipici che produssero conidii tipici ed atipici.

N. 12: foglia adulta di *Kalmia*; tre inoculazioni, verso l'apice, a circa metà ed alla base della foglia (sulla costola mediana) sulla pag. inf. Solo quest'ultima diede luogo ad infezione diffusa: la macchia bruna (preceduta dal solito bordo giallo oro) comparve il 10-VI; il 20-VI la macchia occupava 2/3 della foglia, il 3-VII tutta la foglia era bruna e secca con numerosissimi corpi fruttiferi, specialmente sulla pag. sup., che erano tipici acervoli. Si notarono anche alcuni corpi fruttiferi con strato coprente ben evidente (pseudopicnidii). I conidii erano tipici ed atipici in proporzione quasi uguale; si riscontrarono anche forme aberranti nell'origine delle setole (1 o 2 setole con origine d base anzicchè dall'apice della cellula ialina terminale). Le inoculazioni eseguite sulle aree intercostali della lamina diedero origine (4-VI) a macchiette brune che non si estesero oltre 4 mm. di diametro; su esse comparvero ben presto (6-VI) alcuni acervoli tipici con conidii tipici.

N. 13: foglia giovane di *Rhododendron*; due inoculazioni verso l'apice e verso la metà della foglia sulla pag. sup.

Non si ebbe infezione (24-VIII).

N. 14: foglia adulta di *Rhododendron*; tre inoculazioni, come nella prova n. 12 ma sulla pag. sup. L'inoculazione alla base della foglia diede luogo ad infezione diffusa (10-18-VI); le altre alle solite macchiette circoscritte (3-VI). Acervoli tipici e conidii tipici. Tra i conidii si notarono anche rare forme aberranti non setolate simili a *Coryneum*.

III. - Prove d'inf. per scottatura (29-V).

N. 15: foglia giovane di *Kalmia*; due inoculazioni, verso la metà e verso l'apice della foglia sulla pag. sup.

Non si ebbe infezione (24-VII).

N. 16: foglia adulta di *Kalmia*; due inoculazioni verso la metà e alla base della foglia (sulla costola mediana) sulla pag. sup. Solo quest'ultima diede origine ad infezione diffusa: l'imbrunimento, preceduto dal solito orlo giallo-oro, si manifestò già l'8-VI; il 18-VI occupava 2/3 del lembo; il 24-VI tutta la foglia era secca e bruna e su essa comparvero, molto numerosi tanto sulla pag. sup. quanto su quella inf., i corpi fruttiferi di *Pestalotia*. Si trattava di acervoli tipici (diam. fino a 600×100 micr.) con conidii in maggioranza della forma tipica (atipici circa il 25%).

Riassumendo i risultati di queste prove si constata:

a) Tanto su *Rhododendron* quanto su *Kalmia* l'inoculazione — in qualunque modo eseguita — ha sempre avuto esito positivo quando l'infezione era portata alla base della foglia o meglio ancora se addirittura sulla base della costola mediana. In questo caso si ebbe infezione diffusa.

b) Tanto su *Rhododendron* quanto su *Kalmia* l'inoculazione eseguita su aree intercostali distanti dalla base del lembo ha avuto esito positivo solo in seguito a traumi (ferita o scottatura); ma anche in questo caso l'infezione restò limitata ad una zona assai ristretta (3-4 mm.). Istruttiva a questo proposito è la prova n. 1 nella quale, fallito il tentativo d'infezione per contatto, si è avuto infezione secondaria dopo che la foglia era stata colpita da una alterazione fisiologica (colpo di sole).

c) L'infezione diffusa si manifesta nelle foglie giovani, di ambedue le specie, con un annerimento basifugo ad orli nettamente delimitati; nelle foglie adulte, di ambedue le specie, con un imbrunimento pure basifugo ma ad orli indefiniti preceduto da un largo alone giallo-oro.

d) Nelle infezioni di foglie giovani, di ambedue le specie, *P. macrotricha* sviluppa picnidii o, più raramente, pseudopicnidii; nelle infezioni di foglie adulte, di ambedue le specie, si formano esclusivamente acervoli (raramente anche pseudopicnidii).

e) Nelle infezioni di *Kalmia* il fungo sviluppa conidii tipici ed atipici mescolati (con predominanza ora di questo ora di quel tipo); nelle infezioni di *Rhododendron* quasi esclusivamente conidii tipici.

Confrontando questi risultati con quanto si verifica nel «seccume» dei *Rhododendron* in natura, salta subito agli occhi che quest'ultimo ha quasi sempre origine apicale e si estende basipetamente mentre l'infezione sperimentale procede inversamente, cioè dalla base verso l'apice fogliare; in secondo luogo che il «seccume» naturale ha sempre orli ben definiti e non è mai preceduto dall'alone giallo-oro così caratteristico dell'infezione sperimentale.

Ho dimostrato in un precedente lavoro (15) che la presenza dell'alone giallo-oro si deve far risalire all'attività enzimatica del patogeno e più precisamente all'azione idrolitica dell'«emulsina» prodotta dal fungo allo stato di esoenzima sui glucosidi fogliari, che nelle *Ericacee* sono l'arbutina ed il suo omologo la metilarbutina. La presenza di questi fenolglucosidi si mette facilmente in evidenza col metodo Chemineau, secondo Dop e Gautié (16), nel parenchima fogliare tanto di *Kalmia latifolia* quanto di *Rhododendron maximum*, e la colorazione gialla che precede l'espandersi dell'alterazione non è che il sintoma vistoso dell'avvenuta scissione della metilarbutina in glucosio e in metilidrochinone. Per la stessa ragione è naturale che l'alone manchi nell'alterazioni di natura fisiologica (p. es. nel seccume da colpi di sole e da gelo).

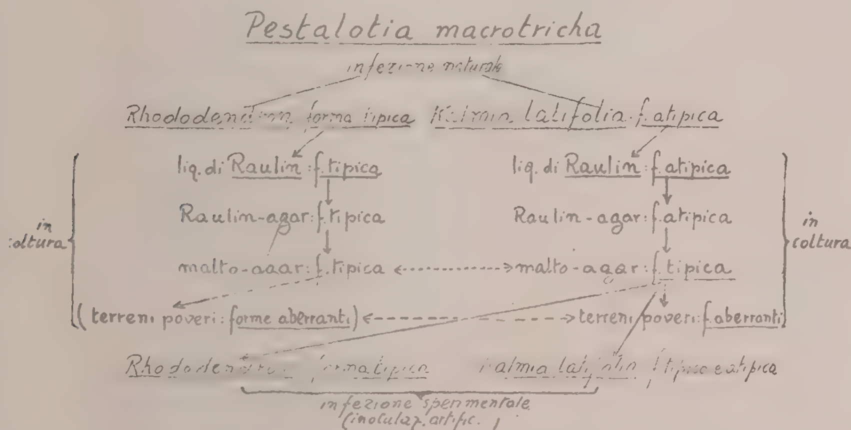
L'assenza dell'alone giallo-oro nelle infezioni di foglie giovani ed il caratteristico annerimento si possono forse spiegare ammettendo che le foglie contengano in principio prevalentemente arbutina il cui prodotto di scissione, l'idrochinone, dà per successive ossidazioni (ad opera di ossidasi preesistenti nei tessuti fogliari o elaborati dal patogeno) prodotti neri (para- ed ossi-para-chinone); le foglie si arricchirebbero solo in uno stadio più avanzato di sviluppo di metilarbutina cosicchè nelle foglie adulte quest'ultima prevarrebbe sull'arbutina.

La presenza di picnidii invece di acervoli nelle infezioni di foglie giovani si può riferire ad influenza sfavorevole del substrato arricchitosi in idrochinone (prodotto di scissione enzimatica dell'arbutina), sostanza tossica o per lo meno non vantaggiosa allo sviluppo del fungo. Effettivamente nelle colture su arbutina (Servazzi, 15) si ottiene uno sviluppo stentato del fungo e non si ottengono fruttificazioni ma formazioni particolari probabilmente riferibili a clami-

dospore. Lo stesso avviene allevando il fungo su altri terreni che contengano come sorgente di carbonio glucosidi che per scissione enzimatica dànno composti tossici come p. es. la salicina (*).

I risultati delle prove d'inoculazione su *Kalmia* forniscono un'altra prova della adattabilità di *P. macrotricha* ad ospiti non pertinenti al gen. *Rhododendron*; adattabilità che probabilmente si estende all'intera tribù delle *Ericaceae-Rhododendreae*. Tuttavia, poichè anche la forma atipica riproduce, se portata su *Rhododendron*, la forma tipica, mentre su *Kalmia* — in natura e nelle infezioni sperimentali — si sviluppa di preferenza la forma atipica, si può pensare che il fungo abbia per matrice-tipo specie del gen. *Rhododendron* e che il gen. *Kalmia* rappresenti solo un ospite occasionale verso il quale si abbia un adattamento incompleto.

Nel seguente specchietto ho schematicamente rappresentato il comportamento di *P. macrotricha* nelle infezioni naturali sulle due matrici, nelle colture e nelle infezioni sperimentali.



Il risultato negativo delle prove di infezione per semplice contatto, ed il fatto che anche nell'inoculazione attraverso ferite l'infezione resta limitata ai tessuti offesi, quando i conidii sono portati su aree intercostali distanti dalle grandi vie conduttrici, concordano con i risultati ottenuti dalla Doyer (l. c.) da White (l. c.) da Kotthof (l. c.), da Howarth e Chippindale (l. c.) e confermano la tesi di questi autori sulla natura non parassitaria di *P. macrotricha* Kleb.

Contrasta d'altro canto con questa tesi il risultato positivo delle inoculazioni

(*) Ricordo per incidenza che il Montemartini (17) osservando come nelle colture di *Pestalotia Briosiana* e *P. funerea* Desm. si formano costantemente acervoli completamente chiusi e limitati con aspetto quasi di picnidii, mentre i *Gloeosporium* e la *Marssonia* danno conidii liberi, considera l'esistenza di acervoli coperti come un segno di adattamento alla vita interna del substrato, ormai fissato, che si mantiene anche quando la funzione protettiva è inutile, come nelle colture. Egli considera perciò le *Pestalotia* come forme più evolute e differenziate dei *Gloeosporium* e delle *Marssonia* le quali in coltura tornano allo stato originario di Ifomiceti. Ora però sappiamo che nello sviluppo di questo o quel tipo di fruttificazione ha grande importanza la natura del substrato. Archer (18) in colture di *P. Guepini* e di *P. palmarum* ottenne formazione di picnidii simili a quelli di *Sphaeropsis*; Klebahn (19) in colture di una *P.* isolata da *Darlingtonia californica* osservò pure la formazione di picnidii, inoltre conidii nascenti direttamente dalle ife vegetative. Picnidi vennero osservati pure da Barnier e Sartory (20) in coltura di *P. Capiomonti* B. et S. Infine il Leininger (l. c.) occupandosi dello sviluppo di *P. palmarum* [illegible] mezzi liquidi; pseudo-picnidii e picnidii solo su determinati substrati solidi. Egli ha potuto anche dimostrare che: « il mezzo più sicuro per ottenere picnidii è quello di sottrarre gli elementi nutritivi ad un micelio cresciuto su liquido; inoltre il trasporto del micelio dall'aria in acqua dopo sottrazione degli elementi nutritivi. All'aria, su substrati solidi, come pure su liquidi si formano pseudopicnidii quando mancano elementi nutritivi ».

eseguite alla base delle foglie in prossimità della costola mediana; ma simile fatto, apparentemente strano, può spiegarsi ammettendo che il promicelio, ove sia riuscito a penetrare attraverso l'epidermide e raggiunto che abbia i vasi, trovi in questi una facile via di diffusione.

La presenza del micelio nei vasi — ed anzi in un sistema così importante come la costola mediana — provoca naturalmente turbe nel normale ricambio organico creando condizioni sempre più favorevoli alla ulteriore invasione da parte del microorganismo anche di tessuti lontani dal centro d'infezione. Si potrebbe in altre parole dire, che il fungo con la sua presenza nei vasi prepara a se stesso le condizioni necessarie alla sua natura di parassita di debolezza.

Che il fungo si propaghi facilmente attraverso i vasi ho potuto constatare anche meglio nelle prove n. 4 e 16 (*Kalmia*) dove l'infezione dalla base delle foglie si era propagata prima al picciolo e poi anche ad una piccola porzione del rametto. In ambedue i casi sul picciolo e sul rametto i corpi fruttiferi del fungo (acervoli con conidii tipici ed atipici) comparvero prima che sulle foglie stesse ma in numero limitato.

Resta comunque a spiegare in che modo il fungo riesca a penetrare attraverso la epidermide nella regione basale della foglia, mentre ciò non gli riesce nelle aree intercostali delle rimanenti regioni fogliari. Ho eseguito numerose sezioni della regione basale delle foglie sia di *Rhododendron* sia di *Kalmia* per osservare la struttura dell'epidermide e degli stomi, ma non vi ho trovato nulla che possa risolvere il quesito.

Da quanto ho esposto risulterebbe confermata la natura non parassitaria di *P. macrotricha* Kleb., che deve essere piuttosto considerata come parassita di debolezza (*weak parasite*) secondo il concetto degli autori citati. Non si deve tuttavia escludere la possibilità in natura, di un'infezione p. d. che però potrebbe avere solo origine basale; nel qual caso l'estendersi basifugo del seccume e la presenza di un orlo giallo-oro intorno alla macchia bruna avrebbero valore diagnostico (p. es. in assenza dei corpi fruttiferi).

Ricerche sugli enzimi

Per completare lo studio biologico di *P. macrotricha* Kleb. ho iniziato ricerche intorno agli enzimi da essa elaborati. Espongo presentemente i risultati preliminari riservando ulteriori comunicazioni a studi ultimati; tali studi preliminari, che hanno valore di orientamento, riguardano principalmente la ricerca qualitativa di alcuni enzimi più importanti.

1 - Lipasi.

Per la ricerca di questa esterasi ho seguito il metodo indicato da Gigante (21), usando il liquido di alcune colture su terreno di Raulin norm. dopo 1½ mese di coltura. Dal liquido vennero grossolanamente separati i feltri micelici (si trattava in tutti i casi di colture pure ed assolutamente normali); il liq. venne quindi centrifugato, per allontanare almeno parzialmente i conidii immersivi, e poi filtrato. Si ottenne un liquido (circa 150 cc.) di color giallo intenso, limpido, a reazione debolmente acida, cui aggiunsi come antisettico alcune gocce di toluolo.

In un matraccio (*a*), 15 cc. del liq. colt. vennero emulsionati con 15 cc. di una soluzione di monobutirrina all'1%; in altro matraccio (*b*) a 15 cc. di monobutirrina all'1 vennero addizionati 15% cc. del liq. colt. previamente scaldato su bagnomaria a 98° C. per 30 minuti (controllo). Ambedue le miscele vennero subito titolate con NaOH n/10 usando come indicatore la fenolftaleina. Per neutralizzare 5 cc. di ciascuna miscela occorsero tanto in *a* come in *b* esattamente 0,15 cc. di NaOH n/10 (8-V-1935). I matracci vennero poi tenuti in termostato alla temp. di 37° C. Il 13-V si eseguì una nuova titolazione: per neutralizzare 5 cc. delle singole miscele occorsero in *a* 1,25 cc. di NaOH n/10; in *b* 0,45 cc. Una terza titolazione al 15-V diede il seguente risultato: per neutralizzare 5 cc. di *a* 1,65 cc. di NaOH n/10; per 5 cc. di *b* sempre 0,45 cc. Il graduale aumento dell'acidità in *a* (mentre nel controllo resta stazionaria) indica la presenza di acido libero (acido butirrico) per scissione della monobutirrina, e quindi la presenza del liq. colturale di lipasi come esoenzima.

2 - Saccarasi (fruttosaccarasi).

Ho seguito il metodo di Effront descritto dal Rouge (22).

Preparata una soluzione di saccarosio p. p. a. al 10%, 10 cc. di tale sol. ven-

nero addizionati a 1 cc. del liq. colt. previamente neutralizzato con NaOH al 10% (provetta *a*). In un'altra provetta (*b* di controllo) a 10 cc. della sol. di saccarosio aggiunsi 1 cc. del liq. di colt. previamente riscaldato per 5 minuti all'ebollizione. Le provette *a* e *b* vennero poste in termostato a 50° C. per mezz'ora; quindi ambedue le soluzioni, dopo aggiunta di 1 cc. di NaOH n , vennero scaldate per 5 minuti a 97-98° C. su bagnomaria: la sol. *a* divenne bruno-rossiccia, quella *b* (di controllo) presentò solo un leggero imbrunimento tendente al roseo. Questa reazione dimostra la presenza nel tubo *a* di saccarosio elaborato allo stato di esoenzima.

Ho anche ricercato la saccarasi nell'estratto di micelio ottenuto da colture su liq. di Richard. A tale scopo i feltri micelici, frantumati e lavati abbondantemente con acqua corrente, vennero essiccati nel vuoto su H_2SO_4 per evitare l'azione dannosa del colore sull'enzima. Il micelio secco finemente macinato con silice venne esaurito con acqua dist. e l'estratto filtrato alla pompa; da gr. 16 di micelio polverizzato ricavai circa 200 cc. di estratto.

Preparata una soluzione di saccarosio al 2,5%, si addizionarono 25 cc. di tale sol. con 3 cc. dell'estr. mic. (matraccio *a*); in un secondo matraccio (*b* di controllo) a 25 cc. della sol. di saccarosio vennero aggiunti 5 cc. di estr. mic. previamente bollito per 5 minuti. I due matracci vennero tenuti in termostato a 37° C. per 48 ore e quindi in ambedue si saggiò la presenza di zuccheri riduttori col reattivo di Fehling.

Nel matraccio *a* si ebbe riduzione totale, nel matraccio *b* riduzione debolissima con formazione di un tenue precipitato di ossidulo di rame: ciò dimostra che il micelio contiene saccarasi anche come endoenzima. Data la leggera riduzione in *b* ho voluto ricercare la presenza eventuale di zuccheri riduttori anche nell'estr. mic. Usando il metodo di Bertrand ho riscontrato in 20 cc. di estr. mic. un tenore in zuccheri riduttori di circa 26,56 mg., ciò che corrisponde ad un tasso di circa 1,6% nel micelio secco, ed approssimativamente alla riduzione osservata nel palloncino di controllo.

La presenza di una saccarasi molto attiva spiega anche la possibilità di allevare il fungo su raffinosio. Ho ottenuto colture molto belle e rigogliose di *P. macrotricha* su liq. di Richard nel quale al saccarosio era stato sostituito, come unica sorgente di C, il raffinosio. Questo trisaccaride viene scisso idroliticamente dall'α- fruttosidasi (saccarasi) in fruttosio e melibiosio: quest'ultimo a sua volta (per opera della melibiasi) viene scissa in glucosio e galattosio, cosicchè in ultima analisi il fungo dispone solo di monosaccaridi facilmente assimilabili.

3 - Maltasi.

Non ho eseguito direttamente la ricerca di questo enzima, ma ho ragione di ammetterne la presenza come esoenzima avendo ottenuto magnifiche colture di *P. macrotricha* su liquidi nutritivi contenenti maltosio come unica sorgente di C. Su tale substrato (reaz. debolmente acida) dopo soli 10 giorni di coltura (16-26 II-36) si ebbero un rigogliosissimo feltro niveo e la deiscenza di oltre 300 acervoli con conidii tipici. Dopo un mese di coltura ho eseguito sul liquido filtrato i saggi col reattivo di Barfoed e con la soluzione di Fehling, ottenendo con ambedue esito negativo (nessuna riduzione). Contemporaneamente ho eseguito i medesimi saggi su liquido di controllo, tenuto per un mese nelle identiche condizioni ambientali (termostato 22° C.); si ebbe riduzione del liquido di Fehling e reazione negativa col reattivo di Barfoed. Poichè la soluzione di Fehling viene ridotta, oltrecchè da monosaccaridi, anche dal maltosio mentre il reattivo di Barfoed (acetato di rame) viene ridotto solo dai mono- ma non dai di- saccaridi, bisogna escludere nel liq. colt. prelevato dopo 1 mese di coltura la presenza sia di maltosio sia di monosaccaridi. Poichè d'altro canto è da escludere che il fungo possa direttamente assimilare il maltosio bisogna ammettere che quest'ultimo per opera di una enzima specifico (maltasi) sia stato idrolizzato a glucosio che a sua volta è stato totalmente consumato dal fungillo onde nel liquido di coltura, a sviluppo ultimato, non si riscontrano più tracce di monosaccaridi.

4 - Trealasi.

Colture di *P. macrotricha* su mezzi contenenti trealosio, come unica sorgente di C., si svilupparono assai bene e rapidamente: dopo 20 giorni si ottennero placche miceliche nivee rigogliosissime e tipiche ed oltre 200 acervoli deiscenti in lunghi cirri. Prelevato in questo momento una certa quantità del liq. colt. per il saggio con la sol. di Fehling si ebbe fortissima riduzione; tale reazione indica

l'avvenuta scissione del diglucoside in glucosio. Poichè peraltro tale scissione avviene — anche all'infuori di ogni azione enzimatica — in presenza di acidi inorganici, ed i liquidi nutritivi da me usati avevano reazione leggermente acida (*ph* 6,7-6) ho voluto saggiare direttamente l'azione del liquido colturale su una soluzione di trealosio. A tale scopo 10 cc. di una soluzione di trealosio p. p. a. al 10%, vennero addizionati con 2 cc. del liq. colt. prelevati (da una coltura su terreno di Richard norm.) previamente neutralizzato con NaOH n/10 (matraccio *a*); analoga miscela ma con liquido colturale previamente bollito per 5 minuti si tenne per controllo (*b*). Ambedue le miscele vennero tenute in termostato per 48 ore a 37° C. Eseguiti quindi i saggi col reattivo di Fehling si ottenne fortissima riduzione in *a*, in *b* solo tracce di ossidulo di rame. Ciò dimostra in *a* la presenza di una α-glucosidasi (trealasi) la quale è dunque emmessa dal fungo come esoenzima; la leggera riduzione in *b* è dovuta a glucosio preesistente nel liq. colt. (come prodotto di scissione del saccarosio contenuto nel liq. di Richard).

La ricerca della trealasi nell'estr. mic. ebbe esito negativo.

5 - "Emulsina" (β - glucosidasi).

Ho già riferito altrove (Servazzi 15) intorno a questo enzima che in *P. macrotricha* viene elaborato unicamente come esoenzima (come del resto è naturale). E' possibile allevare il fungo su liquidi contenenti solo un fenolglucoside come sorgente esclusiva di C; però le colture restano stentate e non si formano corpi fruttiferi ma organi particolari, che ritengo essere clamidospore. Lo sviluppo cessa quando la concentrazione dei prodotti tossici dell'idrolisi è arrivata a dosi incompatibili con la vita dell'organismo.

Interessante a questo riguardo sono le colture su liquidi contenenti salicina come una sorgente di C. Ho eseguito una di tale colture con 29,45 gr. di salicina p. l.: in una settimana il feltro niveo (costituito da ife normali) coprì circa metà della superficie del substrato (21-II-1936); poi il feltro si accrebbe molto lentamente cosicchè dopo un'altra settimana (28-II) esso copriva appena 3/4 del substrato, nè aumentò in seguito nè si svilupparono corpi fruttiferi. Il 21-II ho asetticamente prelevato una certa quantità del liquido per saggiare la presenza dei prodotti di scissione della salicina (glucosio e saligenina).

Con la sol. di Fehling non si ebbe riduzioni (assenza di glucosio), mentre 5 cc. della soluzione addizionati col doppio volume di H_2O dist. e trattati con alcune goccie di cloruro ferrico al 3% diedero prontamente la colorazione violetta permanente caratteristica dei fenoli (saligenina). Con il liquido di controllo (tenuto per uguale periodo nelle identiche condizioni di temp.: 22° C.) ambedue le reazioni rimasero negative.

Dopo 20 giorni di coltura (5-III) ho nuovamente prelevato una certa quantità di liquido: gli zuccheri riduttori (determinati col metodo di Bertrand) vennero calcolati a gr. 7,9 di glucosio p. l. Anche la reazione del cloruro ferrico per la saligenina fu naturalmente positiva. Ho ripetuto i saggi una terza volta su liquido prelevato da colture di un mese: col metodo di Bertrand il tenore zuccherino della soluzione risultò di gr. 8,2 (calc. come glucosio) p. l.: teoricamente la soluzione originaria poteva dare, ad idrolisi completa, gr. 18,53 di glucosio p. l. La prima determinazione dimostra che in un primo tempo il glucosio formatosi, per scissione enzimatica della salicina, viene prontamente digerito dal fungo onde non se ne trova traccia nel liquido nutritivo che intanto si arricchisce dell'altro prodotto della scissione. Ad un certo punto quest'ultimo (la saligenina) è presente nel liquido ad una concentrazione intollerabile, che provoca prima un arresto dell'attività vitale ed infine la morte dell'organismo: in queste condizioni (2ª determinazione), mentre continua l'azione catalizzatrice dell'enzima sul glucoside, cessa il consumo di glucosio da parte dell'organismo e lo zucchero si ritrova nel liquido — a partire da un certo tempo — in quantità costante (3ª determinazione).

Interessante è pure il comportamento di *P. macrotricha* rispetto ai glucosidi cianogenetici p. es. l'amigdalina. Nelle mie precedenti ricerche (l. c.) usando il liquido di Richard con amigdalina come esclusiva sorgente di C (44,80 gr. p. l. quantità stechiometricamente equivalente, per tenore in C, a 50 gr. di saccarosio) avevo notato durante tutto lo sviluppo l'assenza del caratteristico odore della benzaldeide, il che faceva supporre che l'azione dell'emulsina si arrestasse alle fasi β-glucosidasiche restando inattiva la ossilinitrilasi; ed ammettevo con l'Uhlenhaut (23) che ciò potesse dipendere dal fatto che nel caso di rapido sviluppo anche la scissione del glucoside avvenisse rapidamente ed allora il nitrile mandelico non venga ulteriormente scomposto ma ossidato (per azione di so-

stanze di ricambio prodotte dall'organismo stesso) con separazione di NH_3, mentre lo zucchero è prontamente digerito. In questa coltura non si ebbero corpi fruttiferi ma conidiogenesi libera e formazione di particolari corpi sferici (probabilmente clamidospore) identici a quelli osservati nelle colture su arbutina e salicina. Alquanto diversamente si comportò una coltura su altro liq. nutritivo contenente amigdalina, come unica sorgente di C, ma in proporzione di 33,61 gr. p. l. (equivalente per tenore in C a gr. 37,59 di saccarosio p. l.).

Per maggiore chiarezza trascrivo le osservazioni ed i saggi periodicamente eseguiti.

15-II-1936: inseminzamento. — 19-II: micelio su circa 1/10 della superficie libera del substrato e comparsa di una cinquantina di corpuscoli neri piccolissimi. Nessun odore. — 21-II: micelio su circa 1/3 del substrato. Nessun odore. Con la sol. di Felhing nessuna riduzione. — 22-II: deiscenza dei corpuscoli neri che controllati al microscopio si rivelano picnidii. Nessun odore. Con la sol. di Fehling leggera riduzione. La reazione di Nessler è positiva per l'ammoniaca. — 24-II: micelio su circa 1/2 del substrato. Nessun odore. Con la sol. di Fehling leggera riduzione. La reazione di Nessler è positiva per l'ammoniaca. — 26/II: leggero odore di aldeide benzoica. — 28-II: micelio su quasi tutta la superficie del substrato. Picnidii circa un centinaio. Leggero odore di aldeide benzoica. Con la sol. di Fehling leggera riduzione. — 5-III: il micelio non si è ulteriormente sviluppato. Leggero odore di aldeide benzoica. Con la sol. di Fehling leggera riduzione.

Osservazione al microscopio: la placca micelica è costituita da un esilissimo strato superficiale di micelio niveo e da una zona, immersa nel substrato, di consistenza mucilaginoso-gelatinosa spessa circa 2 mm., percorsa in tutti i sensi da ife ialine ricche di sostanza lipoide in forma di grosse goccioline; i corpi fruttiferi sono circa 200 (picnidii), i conidii appartengono in prevalenza alla forma atipica. Questa coltura presenta le stesse caratteristiche (presenza di picnidii; spessore dello strato mucilaginoso) di tutte le colture povere di elementi nutritivi (per es. delle colture contenenti meno del 0,4% di saccarosio o meno del 0,03% di KNO_3).

Occorre infatti aggiungere che in questa coltura il liquido nutritivo conteneva anche gli altri elementi nutritivi in quantità molto minore del liquido di Richard e percisamente: gr. 2,5 di KNO_3, gr. 0,30 KH_2PO, gr. 0.030 di MgSO, p. l. Come ho potuto esperimentare, tali concentrazioni sono più che sufficienti per un normale sviluppo del fungillo quando, come sorgente di C, si usi il saccarosio in proporzioni di gr. 37,59 p. l., equivalente in C a gr. 33,61 di amigdalina; ma è evidente che quel tenore in saccarosio rappresenta, in prodotti utilizzabili da parte dell'organismo, una quantità assai superiore ai 33,61 gr. di amigdalina. In sostanza dunque si tratta proprio di un terreno povero in C assimilabile.

Le reazioni eseguite sul liq. colt. confermano la ipotesi del Uhlenhaut. Infatti nei primi giorni, essendo rapido lo sviluppo del micelio, non si riscontra presenza di glucosio perchè questo è stato completamente consumato, nè odore di aldeide benzoica, perchè il nitrile mandelico non viene ulteriormente scomposto ma ossidato per azione di sostanze di ricambio prodotte dall'organismo. Quendo lo sviluppo comincia a rallentare lo zucchero viene digerito solo parzialmente onde se ne trovano traccie nel liquido e nel medesimo tempo, essendo rallentati i processi di metabolismo diminuisce pure l'azione ossidante sulla cianidrina la cui frazione non ossidata viene scissa idroliticamente dalla benzocianesi (ossinitrilasi) della emulsina in acido cianidrico e aldeide benzoica. Nell'ultima fase del processo interviene poi certamente anche un'azione tossica inibente lo sviluppo del fungo.

Constatiamo dunque una specie di autoregolazione nel processo enzimatico, che può dipendere in parte dalla composizione del mezzo, in parte dalla reazione del mezzo che nelle diverse fasi di sviluppo può variare per azione dell'organismo stesso.

6 - Amilasi.

Su terreni contenenti amido (amido solubile Kahlbaum) come unica fonte di C si ottengono bellissime colture di *P. macrotricha*; lo sviluppo è anche molto rapido e morfologicamente tali colture sono assolutamente normali. Già questo suggerisce l'idea che il fungo emmetta un enzima capace di catalizzare la demolizione dell'amido. Se infatti dopo un mese di coltura si preleva una certa quantità di liquido nutritivo, e si tratta con qualche goccia di iodoioduro di potassio non si ottiene alcuna reazione cromatica ma il liquido si colora semplicemente in giallo per iodio; ciò indica che esistono tutt'al più ancora zuccheri

semplici (maltosio o glucosio). Lo stesso saggio sul liquido di controllo tenuto nelle stesse condizioni di ambiente (22° C.) dà invece la colorazione blu intensa caratteristica dell'amido.

Ho anche eseguito la ricerca diretta dell'enzima.

Preparata una soluzione di amido solubile all'1% — secondo Pottevin v. Rouge, l. c. — 25 cc. di tale soluzione vennero addizionati a 5 cc. di liq. colt. (prelevati da coltura su terreno di Richard norm. dopo 1 mese di sviluppo). La miscela venne tenuta su bagnomaria a temperatura di 38-40° C. e di tanto in tanto se ne prelevava una certa aliquota per i saggi col iodio. Le reazioni cromatiche furono le seguenti:

all'inizio: blu intenso . . amido;
dopo 15 minuti: violetto . . . amilodestrina;
dopo 30 minuti: rosso . . . . eritrodestrina;
dopo 45 minuti: rosso . . . eritrodestrina;
dopo 1 ora: giallo-rossa . . acrodestrina;
dopo 1 ½ ora: giallo (per J) (maltosio o glucosio).

E' dunque evidente la presenza di amilasi come esoenzima.

7 - Inulinasi.

Ho eseguito colture di *P. macrotricha* su liquidi nutritivi contenenti inulina come sorgente esclusiva di C. Lo sviluppo fu stentato, si formò un velo micelico superficiale esilissimo e come corpi fruttiferi picnidii e pseudopicnidii (caratteristica di coltura povera di elementi nutritivi). Dopo un mese di coltura ho eseguito sul liq. colt. la ricerca degli zuccheri riduttori con la sol. di Fehling, ottenendo risultato negativo. La stessa prova su una soluz. equimolecolare di inulina preparata di fresco diede luogo a debole riduzione; ciò dimostra la presenza nell'inulina di zuccheri riduttori come impurezza. Dato il debole sviluppo delle colture su tale substrato, ritengo che il fungo non sia in grado di intaccare la inulina, ma che esso si sia accresciuto a spese dei monosaccaridi presenti nella soluzione come impurità. Perciò nel liq. delle vecchie colture non si trovava più tracce di zuccheri riduttori, questi essendo stati completamente consumati.

8 - Emicellulasi.

Il liq. colt. venne fatto agire su endosperma di datteri preparato secondo Lanphere (24) usando 10 cc. del liq. stesso. La provetta di controllo conteneva endosperma e liq. colt. bollito per 5 minuti. Le soluzioni — trattate con qualche goccia di toluolo come antisettico — vennero lasciate in termostato a 37° C. per un mese, dopodicchè si cercarono gli zuccheri riduttori con la sol. di Fehling. Non essendosi avuta riduzione si può escludere la presenza di emicellulasi.

9 - Ureasi.

Ho eseguito numerose colture su liquidi di diversa composizione contenenti urea (a concentrazioni diverse) come unica sorgente di N. Sempre ebbi colture rigogliose e tipiche, e centinaia di acervoli deiscenti in gocce nere o in cirri di conidii in maggioranza tipici. Questo fatto suggerisce già l'idea che il fungo disponga di un amidasi per scomporre la molecola dell'urea. Ho tuttavia cercato la presenza del carbonato d'ammonio nel liq. colt. (filtrato dopo un mese di sviluppo) col reattivo di Nessler, ottenendo prontamente il precipitato rosso caratteristico per l'ammonio; tale reazione non si ottenne sul liquido di controllo (tenuto per un mese nelle stesse condizioni d'ambiente: 27° C.). Ciò dimostra la presenza dell'ureasi. Ho però anche eseguito una prova diretta. A tale scopo preparai una soluz. di urea al 2%; 10 cc. di tale sol. addizionati ad 1 cc. di liq. colt. (prelevato da coltura su terreno di Raulin norm. dopo 1 mese di sviluppo) vennero messi in una provetta (*a*); in una seconda provetta (*b*) a 10 cc. della sol. d'urea si addizionò 1 cc. del liq. colt. previamente bollito per 5 minuti. Alle soluzioni si aggiunse come indicatore qualche goccia di fenolftaleina ed ambedue vennero quindi lasciate in termostato a 37° C. Dopo 3 giorni nella provetta *b* la soluzione era nettamente rosea (reazione alcalina per NH_3) mentre quella della provetta *b* rimase incolore. Tale reazione conferma la presenza in *P. macrotricha* di un eso- (o endo?) enzima capace di scindere idroliticamente l'urea (*ureasi*).

9 a - Altre amidasi semplici.

La possibilità di allevare *P. macrotricha* su terreni contenenti acetamide oppure asparagina ottenendo colture molto rigogliose e normali suggerisce l'idea

che il fungillo elabori — oltre all'ureasi — anche altri enzimi capaci di sciogliere i legami amidici (acetamidasi, asparaginasi). Idrolasi di questa natura vennero ripetutamente descritte nei funghi, tuttavia spesso le osservazioni non escludono che in luogo di azione specifica si tratti invece di una co-azione tra ureasi ed arginasi. Anche nelle mie colture i saggi sui liq. colt. prelevati dopo 1 mese o più di sviluppo del fungo sono stati sempre positivi per l'NH_3; ma ciò non basta per ammettere effettivamente l'esistenza di enzimi specifici. Su tale argomento continuo le ricerche.

10 - Arginasi.

Colture su d-arginina (come unica sorgente di N in liquidi di composizione analoga al liq. di Richard) si svilupparono rigogliosamente con apparato micelico e fruttificazioni di tipo normale; restarono sterili invece le colture usando la l-arginina. Ciò dimostrerebbe da parte del fungo la capacità di intaccare la d-arginina ma non il suo stereoisomero; tale azione è caratteristica di una amidasi scoperta da Kassel e Dakin, ma tuttora poco conosciuta.

I prodotti di scissione (ornitina ed urea) non vennero trovati nel liq. colturale; non è perciò sicura la presenza di un enzima specifico: qualora tale enzima esistesse si tratterebbe comunque di un endoenzima.

11 - Aminoacidasi.

Su liquidi contenenti glicocolla o triptofano o acido d-glutaminico (aminoglutarico) come esclusiva sorgente di N si ottengono rigogliosissime colture di *P macrotricha*; lo sviluppo è rapido ed i caratteri morfologici perfettamente normali secondo il tipo. Da ciò l'ipotesi che l'organismo possegga la capacità di provocare la deaminazione ossidativa degli aminoacidi. Com'è noto le aminoacidasi (la cui natura enzimatica specifica è del resto dubbia) sono endocellulari strettamente legate all'attività della cellula viva dalla quale non si possono estrarre. Comunque nelle colture contenenti triptofano prelevando, dopo un mese di sviluppo, il liquido colturale, questo non dà più le reazioni caratteristiche di C. Bernard e di Adamkiewicz per gli aminoacidi; mentre col reattivo di Nessler si ottiene la reazione delle aldeidi.

E' interessante notare che in tutte le colture nelle quali il liquido nutritivo conteneva come sorgente di N sostanze organiche che, a demolizione completa, possono dare origine ad ammoniaca (urea, arginina, amidi, aminoacidi) ho constatato — come fatto assolutamente costante — che la faccia inferiore (a contatto col substrato) della placca micelica prendeva ad un certo momento una colorazione verde fino a verde-erba intenso. Tale pigmentazione era in qualche caso diffusa a tutta la superficie inferiore del feltro, qualche altra volta limitata a determinate zone; generalmente era più intensa sugli orli della placca (nella zona di contatto con le pareti del matraccio) e nei punti dove nascevano le fruttificazioni. Il colore verde, che precedeva di solito di due o tre giorni la comparsa dei corpi fruttiferi, diventava poi, con l'invecchiamento della coltura, sempre più scuro fino ad un olivaceo-sporco più o meno intenso. La colorazione giallo-arancione tipica delle altre culture normali compariva più tardi. La pigmentazione verde si osservava del resto anche nelle colture su terreni contenenti come sorgente di N sali d'ammonio (nitrato o tartrato di ammonio).

12 - Proteasi (in generale).

Ho eseguito colture su gelatina al 20% in tubi di coltura graduati. I conidii usati per l'insemenzamento provenivano da una coltura molto robusta su liq. di Raulin. Dopo 10 giorni (temperatura del termostato 18° C.) alla superficie del substrato si notava un feltro ben sviluppato in tutti i tubi. Al disotto del feltro la gelatina era liquefatta in ragione di 10,4-12,5 mmc. essendo molto netta la superficie di separazione tra il liquido e la gelatina.

13 - Chimasi

Per constatare la capacità da parte del fungo di precipitare il caseinogeno vennero eseguite alcune prove sia mediante colture su latte (pieno e parzialmente scremato) sia mediante aggiunta a quest'ultimo di estratto di micelio.

Per le colture si usarono conidii (di tipo normale) di una coltura molto ricca su malto-agar; l'estratto di micelio venne preparato come detto in precedenza. Il latte pieno e quello parzialmente scremato vennero sterilizzati a 100° C. per ½ ora a vapore fluente; il substrato venne usato in proporzioni di 50 cc. in palloni Erlenmeyer da 100 cc. e per ogni prova si tenne un matraccio di controllo.

Dopo 10 giorni nei matracci insemenzati si era sviluppata un'abbondante placca micelica (di tipo anormale) coprente tutta la superfice del substrato e che, osservata al microscopio, risultò formata da ife ialine molto ignrossate, articolate e ramose e ricchissime di guttazioni grasse. Non si ebbero nè corpi fruttiferi nè conidii liberi però si formarono corpi sferici (probabilmente clamidospore) analoghi a quelle già ricordate per le colture su glucosidi. Nel medesimo tempo il latte era completamente coagulato e si presentava come un liquido di color giallo con un abbondante sedimento al fondo. Alla stessa epoca i controlli erano inalterati. Dopo 20 giorni le placche, essendosi nel frattempo ulteriormente accresciute, si presentavano ondulate, irregolari e di color bianco sporco o giallognole, il liquido sottostante era giallo quasi arancione, mentre il sedimento bianco al fondo era notevolmente ridotto di volume; e ciò sia nella coltura su latte pieno come in quella su latte scremato. I controlli invece erano inalterati.

Nei matracci contenenti latte ed estr. mic. (5 cc. di estratto su 50 cc. di latte) la coagulazione iniziò, contemporaneamente nel latte scremato ed in quello pieno, dopo 24 ore e la coagulazione era completa già al 3° giorno. I controlli (50 cc. di latte e 5 cc. di estratto bollito per 5 minuti) rimasero inalterati. Come antisettico venne usato olio di senape come consiglia Rosenthaler (25).

E' dunque evidente che *P. macrotricha* elabora un eso-endo-enzima capace di trasformare il caseinogeno in caseina (che poi precipita allo stato di sale di Ca).

Ho anche voluto vedere se la caseina per ulteriore azione enzimatica era stata digerita e se tale digestione era andata sino alla formazione di peptone. A tale scopo ho prelevato, dalla coltura su latte scremato, 25 cc. di liquido che vennero tratti con acido acetico e poi filtrati. Portato quindi il liquido all'ebollizione, nuovamente filtrato, e leggermente alcalinizzato con NaOH n/10, si aggiunsero due goccie di KJ saturo e poi 2-3 goccie di reattivo di Millon ottenendo prontamente un abbondante precipitato caseoso giallo (reaz. di Randolph per i peptoni, v. Roche, 26). Tale reazione indica che la caseina è stata almeno parzialmente digerita con formazione di peptone, per azione di un enzima proteolitico (« pepsinasi »). La presenza di tale enzima è stata rilevata da vari autori nei funghi; p. es. in *Psalliota campestris* da Buorquelot e Herissey (27).

14 – Allantoinasi.

Per la ricerca di questa desmolasi si usa generalmente far agire la macerazione di fungo su soluzioni di allantoina e quindi si caratterizza l'acido allantoinico formatosi mediante le reazioni dei suoi prodotti di idrolisi (acido gliossilico e urea). Con tale metodo Brunel (28) è riuscito a riscontrare la presenza di questa purin-deidrasi in ben 67 funghi.

Io ho preferito allevare *P. macrotricha* su liquido nutritivo avente la composizione del liq. di Richard ma contenente come esclusiva sorgente di N, anzichè un nitrato, l'allantoina (gr. 3,536 p. l., corrispondenti in N a 10 gr. di KNO_3). Nel liquido di coltura ho quindi ricercato la presenza dell'urea. Le colture si sono sviluppate rigogliosamente (anche usando solo gr. 0,835 di allantoina, equivalente in C. a gr. 2,5 di KNO_3): si ebbero feltri nivei tipici per la specie e sviluppo di centinaia di acervoli deiscenti in cirri o goccie già dopo 10-15 giorni. Dopo 20 giorni di coltura prelevai il liquido che venne filtrato. In esso cercai la presenza dell'urea col metodo di Fosse (29). Preparata una soluzione alcoolica di xantidrolo al 5%, un cc. di tale soluzione e 4 cc. di acido acetico vennero addizionati a 10 cc. di liq. colt. Si ottenne subito precipitato bianco nuvoloso abbondante che restò in sospensione per alcune ore dopo di che si separarono fiocchi cristallini, bianchi, che osservati al microscopio risultarono caratteristici cristalli di dixantilurea (confrontati con una prova in bianco: urea + xantidrolo). Il reattivo dà anche col controllo un precipitato bianco, ma non cristalli di dixantilurea.

Anche in queste colture si ebbe la pigmentazione verde della superficie inferiore del feltro.

15 – Fenolasi (ossidasi e perossidasi).

Per osservare se *P. macrotricha* elaborasse sistemi enzimatici capaci di catalizzare la deidratazione dei cromogeni ciclici (polifenolossidasi) ho eseguito sul liquido di una coltura su terreno normale di Raulin, dopo un mese di sviluppo, la prova del guaiacolo. Il reattivo venne preparato sciogliendo della resina di guaiaco fresca in alcool fino a soluzione dell'1%. Tale sol. venne ancora diluita aggiungendo a 0,5 cc. della tintura di guaiaco 9,5 cc. di H_2O dist. ottenendo

un'emulsone incolore leggermente opalescente. A questa si addizionò 1 cc. del liquido da esaminare. In meno di 5 minuti si ebbe la caratteristica colorazione azzurra che si fece sempre più intensa; mentre la soluzione di controllo (per aggiunta al reattivo del liq. colt. bollito per 5 minuti) rimase inalterata ancora dopo mezz'ora.

Tale reazione è caratteristica delle ossidasi. Usando il reattivo ed il liq. colt. nelle stesse proporzioni, ma con aggiunta di 5 cc. di acqua ossigenata si ebbe già dopo 2 minuti una netta colorazione azzurra. Tale reazione indica la presenza di perossidasi.

16 – Tirosinasi.

Per vedere se in *P. macrotricha* esista, oltre alle polifenolossidasi, anche una desmolasi attiva verso la tirosina ho aggiunto 5 cc. di liq. colt. (prelevati da una coltura su liq. di Raulin dopo un mese di sviluppo) a 5 cc. di una soluzione al 0,5% di tirosina. Come è noto in caso di presenza di tirosinasi si ha colorazione rossa poi nera (Bourquelot, 30). Lasciata la miscela durante 6 giorni in termostato a 37° C., non si ebbe alcuna reazione. Ciò non esclude però che la tirosinasi sia contenuta, come anzi è più probabile, allo stato di endoenzima. Non ho però fatto ricerche in tale senso.

17 – Catalasi.

Facendo agire l'estr. mic. su una soluzione al 3% di acqua ossigenata (ottenuta per diluizione di Perhydrol) non osservai sviluppo di ossigeno. Si dovrebbe quindi escludere nel micelio la esistenza di una desmolasi capace di liberare ossigeno dal perossido (catalasi).

I risultati delle ricerche sugli enzimi sono riassunti nello specchietto della pagina seguente.

Da tali risultati emerge che tutti gli enzimi, la cui presenza è stata riscontrata, esisterebbero allo stato di esoenzimi. Questo fatto mentre è spiegabile e naturale per una parte delle idrolasi (esterasi, carboidrasi e amidasi) sembra urtare contro la conoscenza acquisita sulle proteasi e le desmolasi, che generalmente si ritengono tipici endoenzimi strettamente legati al substrato interno della cellula vivente. A parte il fatto che in questi studi, che come ho detto hanno solo valore di orientamento, io ho trascurato di ricercare tali « endoenzimi », occorre qui ricordare quanto l'Oppenheimer (31) scrive a proposito della distinzione di eso- ed end-oenzimi, particolarmente riferendosi alla proteasi dei bacteri. « Anche là dove gli enzimi si ritrovano liberi nei filtrati delle colture si tratta sempre di fermenti cellulari, e nulla parla a favore di una vera e propria secrezione. Se i fermenti si trovano nei filtrati delle colture, ciò vuol dire solamente che un certo numero di cellule sono morte o lesionate e che dunque questi enzimi sono il prodotto di una autolisi spontanea dei corpi (Rettger); ed allora non fa più meraviglia se i fermenti possono venire estratti con i soliti accorgimenti ».

Nulla dunque vieta di pensare che almeno alcuni degli enzimi riscontrati in *P. macrotricha* esistano anche (o unicamente) allo stato di endoenzimi, e che la loro presenza nel substrato sia in relazione con il decadimento in atto della coltura.

Riassunto

1) Su *Kalmia latioflia* L. (nuova matrice) l'a. ha trovato una *Pestalotia* identificata come *P. macrotricha* Kleb. La forma su *Kalmia* presenta conidii alquanto aberranti (*conidii atipici*) dai conidii della forma vivente sui *Rhododendron* (*conidii tipici*).

2) La forma atipica, isolata da *Kalmia*, ha riprodotto in coltura alla quarta generazione la forma tipica; la forma isolata da *Rhododendron* mantiene anche in coltura i caratteri tipici della specie. E' così dimostrato l'identità della forma aberrante con *P. macrotricha* e nel medesimo tempo la adattabilità di quest'ultima anche su altra specie di *Ericaceae-Rhododendreae*.

3) Ulteriori studi su *P. macrotricha* (forma atipica da *Kalmia*) in coltura, su terreni diversi, hanno dimostrato una notevole variabilità della specie, parti-

	DENOMINAZIONE	RISCONTRATO NEL liq. colt.	estr. mic.	METODO USATO PER LA RICERCA
Esterasi	1 LIPASI	+	n.r.	azione del liq colt. sulla monobutirrina
Esosidasi	2 SACCARASI	+	+	reazione di Effront sul liq. colt azione del liq. colt e dell'estr. mic. sul saccarosio
	3 MALTASI)	(+)	n.r.	(colture su liq. contenenti maltosio)
	4 TREALASI	+	+	(colture su liq contenenti trealosio) azione dell'estr. mic. sul trealosio
	5 "EMULSINA„ (β glucosidasi)	+	—	colture su liq. contenenti arbutina, salicina, amigdalina. azione dell' estr. mic. e del liq. colt. sull'amigdalina
Poliasi	6 AMILASI	+	n.r.	colture su liq. contenenti amido azione del liq colt sull'amido
	7 INULINASI	—	n.r.	(colture su liq contenenti inulina)
	8 EMICELLULASI	—	n.r.	azione del liq. colt. su endosperma di datteri
Amidasi	9 UREASI	+	n.r.	colture su liq. contenenti urea azione del liq. colt. sull'urea
	9a (ASPARAGINASI e altri amidasi sempl.)	?	?	(colture su liq. contenenti acetamide ed asparagina)
	10 (ARGINASI)	?	?	(colture su liq. contenenti d-arginina)
	11 (AMINOACIDASI)	?	?	(colture su liq. contenenti glicocolla, triptofano, acido aminoglutarico)
Proteasi	12 PROTEASI in gen.	+	n.r.	liquefazione della gelatina
	13 CHIMASI	+	+	coagulazione del latte
	(e PEPSINASI)	+	n r	reazione di Randolph per i peptoni nel latte coagulato
Desmolasi	14 ALLANTOINASI	+	n.r.	colture su liq. contenenti allantoina reaz di Fosse per l'urea nel liq. colt.
	15 FENO-LASI Ossidasi	+	n.r.	reazione del blu di guaiaco
	Perossidasi			reaz. del blu di guaiaco per add. di H_2O_2
	16 TIROSINASI	—	n r.	azione del liq. colt. sulla tirosina
	17 CATALASI	n.r.	—	azione dell'estr. mic. sull'H_2O_2

n.r. = non ricercato

colarmente nei caratteri dei conidii e nella natura dei corpi fruttiferi. Tale variabilità è in correlazione con la natura del substato: in linea generale i conidii sono tanto più grandi, tanto più scuri e tanto più lunghi quanto più nel substrato aumentano gli elementi nutritivi e parallelamente oltrepassato un certo minimo di concentrazione dei singoli elementi nutritivi nelle colture non si sviluppano più gli acervoli tipici dei *Melanconiali*, ma picnidii e pseudopicnidii, cioè forme chiuse di fruttificazioni riferibili agli *Sferopsidali*.

4) Vennero eseguite prove di inoculazione artificiale, per contatto, per lesione, per scottatura, con conidii tipici su foglie di *Kalmia* e di *Rhododendron* giovani ed adulte. Le prove hanno dato esito positivo (infezione diffusa) solo quando l'inoculazione era eseguita alla base della foglia; inoculazioni eseguite su aree intercostali distanti dalla base fogliare hanno avuto esito positivo solo in seguito a traumi (lesioni o ferite), ma anche in tale caso la infezione è rimasta limitata ad una zona assai ristretta. L'infezione diffusa si manifesta nelle foglie giovani con un annerimento basifugo nettamente delimitato del lembo, nelle foglie adulte con un imbrunimento basifugo indefinito preceduto da un largo bordo giallo-oro. Tale caratteristica colorazione è dovuta alla scissione enzimatica della metilarbutina contenuta specialmente nel parenchima delle foglie, ad opera dell'emulsina elaborata dal fungo. Le prove di infezione dimostrano che *P. macrotricha* è un parassita di debolezza — conforme l'opinione di quasi tutti gli autori che hanno trattato tale argomento — e confermano nel medesimo tempo che il fungo può adattarsi a specie diverse delle *Ericaceae-Rhododendreae*.

5) Nelle infezioni di foglie giovani di *Kalmia* e *Rhododendron* si sviluppano *picnidii* o *pseudopicnidii*; tale fatto va probabilmente messo in relazione con l'attività enzimatica del fungo che mediante l'emulsina scinde l'arbutina con produzione di idrochinone che esercita una azione tossica sul microrganismo stesso. Nell'infezione di *Rhododendron* il fungo sviluppa conidii tipici, nelle infezioni di *Kalmia* anche conidii atipici; ciò dipende probabilmente da un incompleto adattamento del fungo al substrato.

6) Ricerche qualitative di orientamento sugli enzimi elaborati da *P. macrotricha* hanno dimostrata la presenza della lipasi, di alcune carboidrasi (saccarasi, trealasi, emulsina, amilasi), dell'ureasi della chimasi, di alcune desmolasi (allantoinasi, [illegible]), sia allo stato di eso- sia allo stato di endo-enzima. E' incerta la presenza di alcuni altri enzimi (maltasi, asparaginasi ed altre amidasi semplici, arginasi, aminoacidasi), mentre si può escludere la presenza dell'inulasi e dell'emicellulasi tra le idrolasi, e della tirosinasi e catalasi tra le desmolasi.

O. Servazzi.

BIBLIOGRAFIA

1) Servazzi O.: Boll. Lab. sperim. fitopat. Torino, XIII (1935), 22. — 2) Guba E. F.: Phytopath., XIX (1929), 214-215. — 3) Tengwall T. A.: Meded. Phytopath. Lab. « Willie Commelin Scholten », VI (1924), 58-61. — 4) Schmitz H.: Phytopath., X (1920), 273-278. — 5) Doyer C. M.: Meded. Phytopath. Lab. « Willie Commelin Scholten », IX (1925), 1-72 — 6) White R. P.: Phytopath., XX (1930), 85-91. — 7) Howarth W. O. and Chippindale H. G.: Mem. and. Proc. Manchester Lit. and Phil. Soc., LXXV (1931), 95-103. — 8) Kotthof P.: Die Gartenbaumwissensch., III/1 (1930), 71-73. — 9) Servazzi O.: Boll. Lab. Sperim. fitopat. Torino, XI (1934), 16-35. — 10) Lison L.: C. R. Soc. Biol., CXV (1934), 202. — 11) Klebahn H.: Myc. Centrabl., IV (1914), 6. — 12) Lagerberg T.: Skogs. Förening. Tidskrf. Meddel. Stat. Skogsförsöksanst., V (1911), 183-195. — 13) Massee G. A.: Kew. Boll. Misc. Inform. 138 (1898), 106-109. — 14) Leininger H.: Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk II Abt., XXIX (1911), 3-35. — 15) Servazzi O.: Nuovo Giorn. Bot. Ital., XLIII (1936), 259-262. — 16) Dop P. et Gautiè A.: Manuel de Technique Botanique, II ed., Paris, Lamarre (1928), 206. — 17) Montemartini L.: Atti Ist. Bot. Pavia, II Ser., VI (1900), 49-92. — 18) Archer W. A.: Ann. Mycol., XXIV (1926), 66. — 19) Klebahn H.: Mycol. Centralbl., III (1913), 109-115. — 20) Bainier G. et Sartory A.: Ann. Mycol., X (1912), 433-436. — 21) Gigante R.: Boll. R. Staz. Pat. Veg. Roma, XIV (1934), 144. — 22) Rouge E.: Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II Abt. XVIII (1907), 416. — 23) Uhlenhaut H.: Ann. Mycol., X (1911), 567. — 24) Lanphere W. M.: Phytopath., XXIV (1934), 1244. — 25) Rosenthaler L.: Grundzüge d. chem. Pflanzenunters. III Aufl., Berlin, J. Springer (1928), 140. — 26) Roche L.: Réactions et Réactifs., Paris, Gauthier-Villars, 271. — 27) Bourquelot E. et Hérissey H.: Bull. Soc. Mycol. de France, XV (1899), 60. — 28) Brunel A.: C. R., CXCII (1931), 442. — 29) Fosse R.: C. R., CLIV (1912), 1448. — 30) Bourquelot E.: Bull. Soc. Myc. de France, XIII. (1897), 65. — 31) Oppenheimer C. u. Kuhn R.: Lehrbuch der Enzyme. Leipzig, Thieme (1927), 437.

TAVOLA I

Fig. 1 - Coltura di P. macrotricha *su malto agar. al* 12° *giorno di sviluppo. Sul feltro niveo spiccano i corpi fruttiferi (acervoli).*

Fig. 2 - Coltura di P. m. *su liq. di Richard, dopo due mesi di sviluppo. Il substrato è intensamente colorato in giallo-arancione; la placca micelica è molto ondulata; è cessata la deiscenza ed i conidii si sono rappresi in masserelle nere sub-carbonacee.*

Fig. 3 - Foglia adulta di Kalma latifolia *(pag. sup.) con imbrunimento basale iniziale preceduto da bordo giallo oro, in seguito a inf. artif. per contatto. L'inoculazione era stata eseguita in* a, *sulla pag. sup. Leggerm. ridotta.*

Fig. 4 - Sez. trasv. di una foglia di K. l. *adulta con acervolo maturo di* P. m. *Inf. artif. per contatto. Ingr. 100 diam.*

Fig. 5 - Foglia giovane di K. l. *con macchiette disseccate in seguito a inf. artif per contatto su aree intercostale. Gr. nat*

Fig. 6 - Picnidio di P. m *deiscente su foglia giovane di* K. l. *inf. artif. Si distinguono le cellule paraplectenchimatiche del peridio. Ingr. 150 diam.*

Fig. 7 - Coltura di P. m. *su liq. di Richard con gr. 0,40 di saccarosio p.l. al* 30° *giorno di sviluppo. Il feltro micelico è misero, i corpi fruttiferi sono picnidii.*

Fig. 8 - Picnidio isolato della colt. precedente nel momento della deiscenza. Ingr. 50 diam. circa

TAVOLA II

Fig. 9 - Colt. di Pestalotia macrotricha *su brodo di fagiuoli-agar. al* 30° *giorno di sviluppo. Tipica deiscenza degli acervoli in grosse gocce nere di aspetto catramoso, carattere comune a tutte le colt. su substrati solidi*

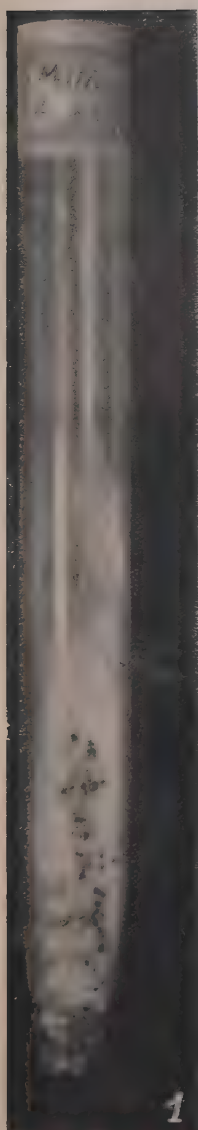
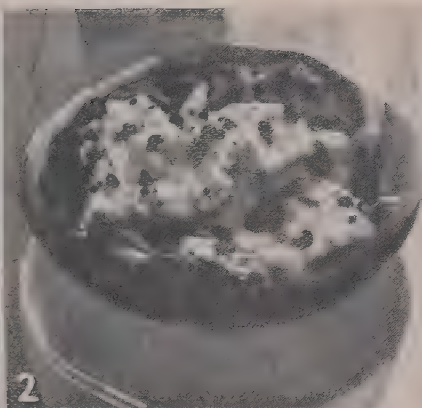
Fig 10 - Micelio dello strato più profondo (sommerso) di una colt. su liq. di Richard. Le ife contengono gocce di sostanza lipoide. Coloraz. col blu BZL; ingr. 300 diam

Fig. 11 - Conidii di una colt. povera in elementi nutritivi. La sol conteneva: gr. 0,30 di KNO_3, *gr 0,075 di* KH_2PO_4, *gr. 0,03* $MgSO_4$, *gr. 50 di saccarosio p l. Le tre cellule della porzione mediana sono scurissime; i conidii misurano in media 27-28 micr. (Cfr. fig. 12).*

Fig 12 - Conidii di una colt. ricca di elementi nutritivi (sol. di Richard con 200 gr. di saccarosio p.l.). Le tre cellule della porzione mediana sono chiarissime: i conidii misurano in media 24-25 micron. (Cfr. fig. 11) Le microfot. 11 e 12 sono state eseguite in condizioni identiche: ingr. 580 diam., lastre Cappelli al bromuro (grigie), diaframma compl. chiuso, schermo giallo; posa 12 sec.

Fig. 13 - Picnidio isolato da una colt. povera (liq. di Richard con gr. 0,075 di KH_2PO_4 *p.l). Il c.f. presenta una breve papilla. Ingr. 160 diam.*

Fig. 14 – Picnidio isolato da una colt. povera (liq. di Richard con gr. 0,30 di KNO_3 *p.l.) sez. trasv Si riconoscono le cellule plectenchimatiche scure del peridio* (p) *intorno alla massa dei conidii* (c), *sez p. incl. Ingr. 150 diam.*

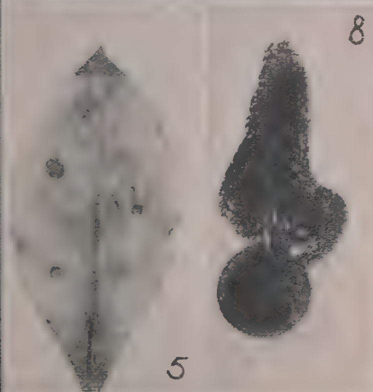
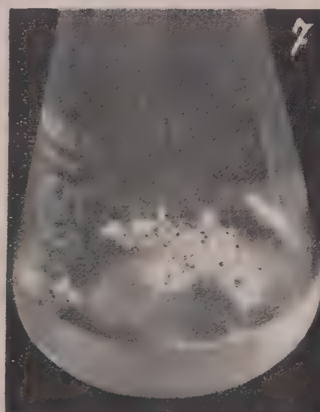
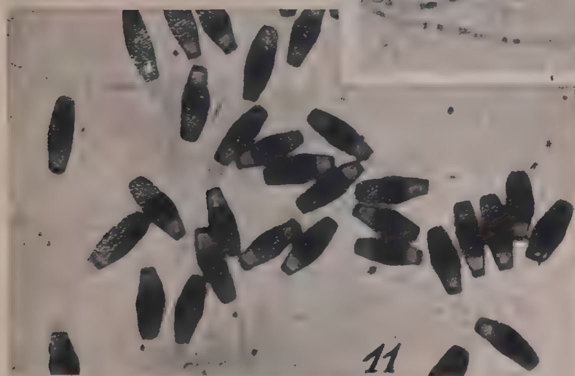



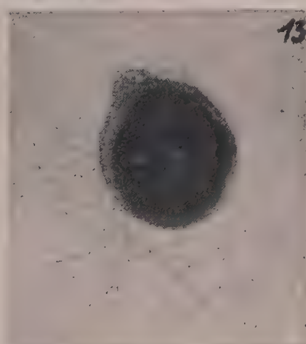


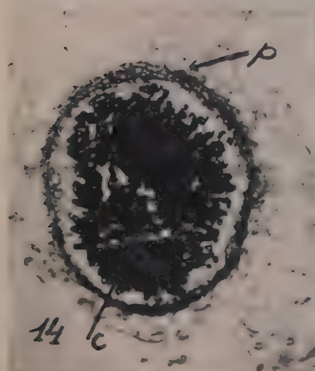
TAVOLA I











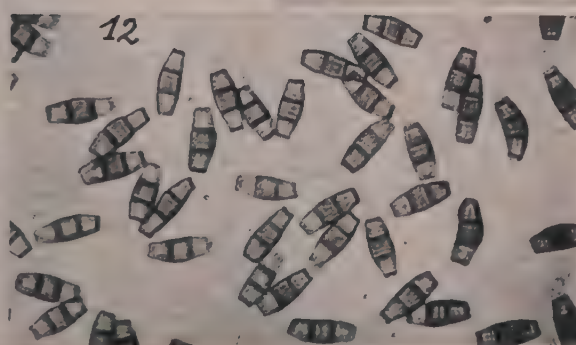


TAVOLA II

Cronaca del mese di settembre

Malattie e insetti osservati. — La nebbia e gli sbalzi termici della seconda quindicina hanno favorito lo sviluppo di crittogame ed anticipato l'arresto della vegetazione con formazione di tessuti necrosati, particolarmente sulle foglie di melo nelle quali si sono sviluppati funghi saprofiti dei generi *Cladosporium* ed *Helminthosporium*.

In alcuni vigneti delle colline torinesi, ove i bruchi di tignola hanno alterato il 25-30% di chicchi d'uva, si è sviluppato abbondante il marciume grigio (*Botrytis cinerea*) a determinare la perdita dell'intero grappolo.

Frutti di pero e melo hanno ripreso con eguale intensità che in Luglio ad essere attaccati dalla muffa a circoli (*Monilia fructigena*).

E' continuato sulle Amigdalacee lo sviluppo della gommosi indotta da *Clasterosporium carpophilum*.

Nelle coltivazioni di peperone ha indotto danni la *Phytophthora omnivora*.

Sulle foglie e frutti di limoni ed aranci è stata riscontrata l'antracnosi dovuta a *Colletotrichum gloeosporioides*.

Nella regione del Verbano alcune piante ornamentali come *Ligustrum* e *Cedrus* particolarmente il *Cedrus deodara* sono deperite per attacchi di marciume radicale attribuibile ad *Armillaria mellea*.

La Laspeyresia molesta arrecò danni gravi al raccolto delle pesche nella zona di Santena; è stata pure segnalata la presenza di questo parassita nella zona di Rivoli.

Le piante di *Ficus carica* hanno avuto le foglie erose intensamente dalla *Simaethis nemorana*.

Sui pioppi le erosioni fogliari sono state determinate da *Lina populi*; in molte località si ebbe un grande sviluppo della seconda generazione di bruchi di *Stilpnotia salicis* che defogliarono filari intieri di alberi di Canadese, Caroliniano e Cipressino.

Le solanacee ortensi, particolarmente le patate sono deturpate da *Psillidi* e *Afidi*.

Le larve di *Elateridi*, insieme agli *Oniscidi* ed a *Millepiedi* produssero danni alla parte aerea e radicale di piante da giardino varie.

Fra gli entomocecidi sono stati comuni sulle foglie di quercia quelli di *Dryophanta quercus-folii* e di *Arnoldia Cerris*, sulle foglie di faggio quelli di *Mikiola fagi*.

Si sono riscontrate galle filosseriche su foglie di vitigni americani in quel di Moncalieri.

Fra i deperimenti d'indole fisiologica è stata osservata la *vetrosità* delle mele.

Notiziario del servizio fitopatologico. — Dal 14 di settembre ha avuto inizio il servizio di vigilanza sulla esportazione delle castagne negli Stati Uniti, dalla provincia di Cuneo, con la varietà *Canaline*, che quest'anno hanno raggiunto una normale completa maturazione presentando dopo la cernita una contaminazione del 3-4% di *Carpocapsa splendana*, più 3% di guasto di natura crittogamica. E' presente anche la specie *Carpocapsa juliana*. Verso il 25 hanno avuto principio le spedizioni della varietà *Selvaschina*, anch'essa ben maturata, piena, con contaminazione di insetti (Carpocapsa, Balaninus) varia, secondo la provenienza, dall'1% al 5%.

In Laboratorio si sono effettuati 50 esami di materiale fitopatologico, 10 analisi di semi da prato e di frumento per la determinazione del grado di germinabilità.

Sono state fatte visite fitopatologiche per il rilascio di due certificati a privati per la circolazione di [illegible] nel Regno e [illegible] di piante e di bulbi in Germania e nelle Colonie.

Il Laboratorio ha preso parte, con l'invio di materiale dimostrativo sulle malattie delle piante coltivate, alla Mostra provinciale [illegible] di Carmagnola.

I Delegati fitopatologici hanno eseguito sopraluoghi in [illegible] e visite a coltivati nelle regioni di [illegible], Saluzzo, [illegible], Villanova, Molini d'Isola d'Asti, Alessandria, Fubino, Nizza Monferrato, Castelnuovo Belbo, Portacomaro, Settimo, Cassine, Ovada, Cremolino, S. Damiano e Orbassano.

Presso la Dogana di Torino, Ufficio Pacchi, si sono eseguite sei visite fitosanitarie per l'importazione di 10 pacchi di semi vari (Kg. 60).

Cronaca del mese di ottobre

Malattie e insetti osservati. — Si lamentano ovunque sensibili danni al raccolto di pere e mele per attacchi di *Fusicladium dendriticum* e *F. pirinum*. Sulle pesche analoghi danni ha arrecato il *Clasterosporium carpophilum* spesso associato agli attacchi di *Cydia molesta*.

Nelle coltivazioni in serra di ciclamini della Persia il grave deperimento indotto dallo sviluppo del *Gloesporium cyclaminis* ne impedisce la fioritura necrotizzando i giovani bottoni attaccando spesso anche i peduncoli fogliari con conseguente essiccamento del lembo.

Presso i vivai municipali si è diffusa una malattia crittogamica sul genere *Cryptomeria* e gen. *Larice*, in corso di studio.

Su tuberi di patata si è riscontrato qualche lieve attacco di scabbia da *Hypocnus Solani*.

In uno stabilimento di floricultura sono andati distrutti i bulbi di giacinto per marcescenza conseguente ad attacchi di *Pseudomonas Hyacinthi*.

Si vanno diffondendo in provincia di Torino e Novara i Coccidi *Icerya Purchasei* su agrumi, *Aspidiotus Nerii* su varie piante ornamentali come palme, aucube, oleandri, ecc.

Su alcuni Larici è constatato qualche attacco della Tortrice grigia *Steganoptycha diniana* sui giovani rami.

Attacchi estivi-autunnali di *Tetranychus telarius* hanno determinato sugli Abeti l'ingiallimento fogliare.

Il raccolto di patate di campi dell'alta valle di Susa è stato lievemente danneggiato dall'azione erosiva del Dittero polifago radicivoro *Bibio hortulanus*.

Notiziario del servizio fitopatologico. — In tutto l'ottobre è continuato in Provincia di Cuneo il servizio iniziato lo scorso mese, della vigilanza fitosanitaria sull'esportazione delle castagne negli U. S. A.; nella seconda metà del mese detto servizio è incominciato anche in provincia di Torino.

Le varetà Selvaschine e Domestiche esportate in questo periodo sono in massima parte di produzione cuneese, poche del Lazio. I frutti sono pochissimo contaminati da insetti, non molto grossi ma ben formati di guisa che lo scarto nella cernita è minimo costituito più che altro da castagne con pericarpo fessurato.

In Laboratorio si continuano le prove e ricerche sulla preservazione dall'ammuffimento delle castagne, quelle sull'azione stimolante di alcune sostanze sulla germinabilità del frumento, quelle sull'accertamento dell'efficacia di insetticidi ed anticrittogamici.

Si sono eseguite 10 analisi di semi per la determinazione del grado di germinabilità ed energia germinativa, del grado di purezza e per la ricerca della cuscuta.

Si sono eseguite visite per l'esportazione di frutta nelle colonie italiane con rilascio del relativo certificato fitosanitario.

Presso l'Ufficio pacchi della R. Dogana di Torino si sono effettuate 10 visite per l'importazione di 18 pacchi di semi vari (kg. 90). E' stata respinta una spedizione di tuberi di patate.

Sono stati effettuati sopraluoghi a stabilimenti, mercati, a Cuneo, Boves, Borgo S. Dalmazzo, Caraglio, Busca, Dronero, Verzuolo, Manta, Venasca, Torre Pellice, Pagno, Lucento, Bussoleno, S. Maurizio Can., Beinasco, Rivoli.

Cronaca del mese di novembre

Malattie e insetti osservati. - Nei frutteti riscontransi sui rametti giovani di pero le screpolature corticali intersecantesi in varie direzioni, residui degli intensi attacchi di *Fusicladium* (*Venturia*) *pirinum* della scorsa estate,

Nelle serre continuano i danni già lamentati alle coltivazioni di Ciclamino della Persia per gli attacchi del *Gloeosporium Cyclaminis.*

Tuberi di patata sono pervenuti in esame per controllarne la sanità essendo destinati alle semine. Pur avendo un bell'aspetto esteriore, all'interno presentavano un'accentuata *necrosi maculata.* Su altri tuberi si sono rinvenute tracce di scabbia indotta da *Hypocnus solani.*

In quel di Carmagnola si sono notati esemplari di viti americane con galle fillosseriche fogliari.

Frutti di pero di varietà tardive lievemente attaccati dalle larve di *Cydia pomonella*, già abbandonati dall'insetto, presentano una caratteristica ipermaturazione.

In giardini privati, le aiuole di Viola odorata sono danneggiate dalla *Perrysia affinis* accartocciante le foglie ai margini e inducente un diffuso rachitismo fogliare.

Il raccolto dei legumi è quest'anno piuttosto danneggiato dai Tonchi, particolarmente i fagioli dall'*Acanthoscelides obtectus* riscontrato in Val di Susa e nelle regioni collinari torinesi.

Fra i coccidi si sono notati lo *Pseudococcus citri* su piante di limone, l'*Icerya Purchasei* su vari agrumi, l'*Aulacaspis Rosae* su rose.

Nei coltivati a frumento è diffusa la pianta infestante *Arrhenatherum elatius* var. *bulbosum.*

Notiziario del servizio fitopatologico. — E' continuato ininterrottamente nel mese il servizio di vigilanza sull'esportazione delle castagne in America, sia in provincia di Cuneo, sia in quella di Torino.

Sono state spedite le varietà Domestiche, Piccotto e Marrone, tutte in generale poco attaccate da insetti, ma più che altro dallo ammuffimento. La percentuale complessiva di frutti guasti si aggira tra 6 e 12%.

In Laboratorio continuano le esperienze per la preservazione delle castagne dalle muff,e prove sulle sostanze stimolanti la germinazione dei semi e su insetticidi e disinfettanti vari.

Sul mercato di Chieri è stato effettuato un sequestro di viti che in seguito sono state distrutte con le modalità di legge.

Il Laboratorio ha partecipato alla Mostra propaganda in occasione del Mercato dei marroni in Cuneo, con invio di materiale dimostrativo sugli insetti che danneggiano le castagne ed i mezzi più convenienti per combatterli.

Si sono eseguiti 15 esami di semi per il grado di germinabilità, purezza e ricerca di cuscuta.

Presso la Dogana Italiana di Modane hanno avuto luogo cinque visite fitosanitarie richieste da privati per l'importazione di 128 sacchi di semi da orto (Kg. 3.668) e di 13 sacchi di semi da prato (Kg. 650).

Presso gli Uffici doganali di Torino si sono effettuate 30 visite per l'importazione di 1 carro di ginestrino (Kg. 5.000); 44 sacchi di semi da orto e lupinella (Kg. 2.072); 2 colli di piante di lampone e forestali (Kg. 111); 24 pacchi di semi, bulbi e piante (Kg. 124).

I Delegati speciali per le malattie delle piante hanno effettuato visite a coltivati, magazzini, vivai nelle località: San Mauro, Leyni, Bussoleno, Cuneo, Manta, Saluzzo, Boves, Peveragno, Pagno, Torre Pellice, Venasca, Ciriè.

Il Direttore ha preso parte alla riunione della Società di Cultura e Propaganda Agraria, alla R. Accademia di Agricoltura di Torino e alla premiazione della Battaglia del grano.

Cronaca del mese di dicembre

Malattie e insetti osservati. — Nei frutteti sono frequenti su meli i rami affetti da cancro con le fruttificazioni di *Nectria ditissima.*

I rami dell'annata di pero e melo mostrano le caratteristiche screpolature corticali per gli attacchi estivi di *Fusicladium pirinum* e *F. dendriticum.*

Non mancano casi di cancri sul melo limitati al periderma e indotti da *Sphaeropsis malorum.*

Sul pesco qualche rametto dell'anno mostra l'estremità rivestita d'un feltroso intreccio di ife bianco grigiastre di *Sphaerotheca pannosa.*

Giovani rami di albicocco si presentano essiccati nel tratto terminale e mostrano erompenti dalla corteccia stromi fungini riferibili a *Cytosporella* fungillo in corso di studio.

Le piante di *primula* coltivate in serra presentano marcescenza nelle foglie e nei bottoni fiorali per sviluppo di *Botrytis vulgaris.*

Furono esaminati dei fieni provenienti da silos e leggermente muffiti per la determinazione delle muffe che risultarono appartenere ai generi *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichotecium*, *Ryzopus*, *Mucor* e *Stysanus*.

Sono stati denunciati da varie zone infestazioni di *Eriosoma lanuginosum* su melo, ma si è riscontrato ovunque che esso è mantenuto limitatissimo dalla presenza dell'*Aphelinus mali*; in diverse piante anzi non rimangono che i tumori dell'afide con qualche guscio vuoto degli individui parassitati.

Su piante di ciliegio il cerambice *Saperda scalaris* ha indotto qualche dànno scavando gallerie nel fusto.

E' stata notata e denunciata una intensa infestazione di insetti ritenuti nocivi, ora riparati nelle cortecce di tigli: si tratta dello emittero *Taphropeltus contractus* H. S., forma indifferente.

Nelle serre l'*Eliothrips haemorroidalis* determina essiccamenti fogliari su ciclamini, azalee, rododendri.

Sono diffusi sul lauro la *Trioza lauri*; sul lauroceraso il *Lecanium hesperidum*; su sofora la *Diaspis pentagona*; su agrumi e acacia l'*Icerya purchasei*; su palme l'*Aspidiotus hederae*; su cactee il *Pseudococcus adonidum*. In alcuni frutteti si è notata una grande diffusione di *Diaspis Leperii* su alberelli di pero di 6-7 anni; su tali alberelli verranno durante l'inverno esperimentati alcuni insetticidi inviati all'Osservatorio per farne delle prove.

Pure assai comune in alcune località è sui peri il *Lepidosaphes ulmi*, su peschi e piantine giovani di noce la *Diaspis pentagona*.

Notiziario del servizio fitopatologico. — Fin verso la metà di dicembre è continuato il servizio di vigilanza sull'esportazione verso gli Stati Uniti delle castagne dalle provincie di Cuneo e di Torino.

Le varietà Picotto e Marrone con la prima in prevalenza hanno soddisfatto le richieste di questo mese e presentato uno stato sanitario soddisfacente; pochissimi erano i frutti alterati dagli insetti e quelli affetti da micromiceti si aggiravano intorno a 5-10%. In piccola quantità esse sono state esportate anche in Egitto. Nella campagna di esportazione ormai volgente al termine sono stati spediti dalla provincia di Cuneo Ql. 47.030 e da quella di Torino Ql. 2.888.

Altri controlli fitosanitari sono stati eseguiti per il rilascio di certificati ad una spedizione di bulbi ed una di semi di Robinia in Francia, una di mele in Austria.

In Laboratorio sono state eseguite 22 analisi di semi nei riguardi della ricerca cuscuta, grado di germinabilità ed energia germinativa, purezza.

Si sono tenute riunioni con agricoltori ed eseguite visite a vivai di fruttiferi, a frutteti, a stabilimenti ortofrutticoli di Bagnolo, None, Pancalieri, Casalgrasso, Virle, Castagnole, Bussoleno, Cuneo, Saluzzo, Chieri, Pecetto, Rivarolo, Susa, Pinerolo, S. Pietro val Lemina, Villanova d'Asti e Grugliasco.

Presso gli Uffici doganali di Torino si sono effettuate 28 visite fitosanitarie per l'importazione di 4 colli di piante di castagno giapponese (Kg. 220), 2 colli di piante ornamentali (Kg. 98), 4 sacchi di semi di melo (Kg. 204), 16 pacchi di bulbi e semi (Kg. 78). Sono stati controllati per il transito attraverso il territorio italiano 2 carri di semi di orto (Kg. 8.898).

Il Direttore ha preso parte alle riunioni della R. Accademia di Agricoltura, della Società di Cultura Agraria, e si è recato a Roma per servizio fitopatologico.

Il Direttore: Prof. G. DELLA BEFFA.

Direttore responsabile: DOTT. G. DELLA BEFFA